平成 **18** 年度成果報告

知的基盤創成・利用促進研究開発事業

臨床検査用標準物質の研究開発

平成 **19** 年 **5** 月

（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構

委託先　（独）産業技術総合研究所

はしがき

本研究は平成 18 年度（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）「知的基盤創成・利用促進研究開発事業」の委託事業として実施したものである。

臨床検査は一般的な健康診断や病院での初期診断検査として国民の関心が高い分野であり、特に最近ではメタボリックシンドローム（代謝症候群）診断が国民的な関心事となり、厚生労働省を中心に当該診断に関する全国統一の指針を策定中である。なかでも、臨床検査データの標準化は個人の検査データに普遍性を付与し、健康管理データとして継続的な利用を可能にする点から、国民の健康や医療に直接的に貢献する分野である。臨床検査の標準化に関する活動は、これまでにも関係する諸学協会の努力によってさまざまな分野で進められ、臨床検査の進歩に大きな成果を挙げてきた。一方、近年の人的および物的交流、情報交流さらには研究交流のグローバリゼーションにともない、臨床検査分野においても測定方法や測定結果の標準化が世界的な規模で必要とされるようになった。具体的には、2006 年から EU において体外診断薬に関する指令（In Vitro Diagnostic Medical Devices: IVDMD 指令）が発効されるに至り、臨床検査における測定方法の妥当性と測定結果の信頼性の保証、すなわちトレーサビリティの確保が求められる時代へ入った。このため、世界中の臨床検査関連産業からは、臨床検査結果の信頼性と互換性を確保するために必要な国家計量標準としての標準物質やトレーサビリティを確保するために必要な標準物質の開発・供給が強く望まれている。2002 年 6 月には国際度量衡委員会（CIPM）と国際臨床化学連合（IFCC）の合同委員会「検査医学におけるトレーサビリティに関する合同委員会 (Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine: JCTLM)」が設置され、臨床検査分野における純物質系標準物質および高位の実試料系標準物質の整備が欧米日を中心に進められている。

本研究は、上記のような臨床検査に関わる国内的および世界的な潮流のもとで、極めてタイムリーに始められた。本研究では臨床検査に係わる産学官の研究者の参加を得て、初診時に必須な検査項目や臨床側より要望の高い検査項目について、末端ユーザーから高位標準物質までのトレーサビリティ体系を構築することを目的として、実試料系標準物質および純物質系標準物質の研究開発を行っている。同時に、現時点では高位標準物質の開発が難しい項目については、問題点の把握と開発の見通しを得ることを目的として調査研究を行っている。本研究開発により、数量的にも実効的な標準物質を迅速に整備するとともに、臨床の現場から国際単位系にまで遡及できる理想的な臨床検査のトレーサビリティ体系を社会に示すことで、臨床検査分野における計量的な意味での標準化が確立されることを願う次第である。

平成 19 年 5 月 1 日

研究代表者　　千葉　光一
（独）産業技術総合研究所　計測標準研究部門

成 果 報 告 書 目 次

１．事業目的および成果の概要 1
１－１　事業目的 1
１－２　事業概要 1
１－３　成果の概要 4
１－４　目的に照らした達成状況 6
２．成果の詳細 8
２－１　標準化基本検討委員会 8
２－１－１　目的 8
２－１－２　委員会構成 8
２－１－３　活動総括 9
２－２　実試料系標準物質の研究開発 10
２－２－１　総　括 10
２－２－２　実施態勢 20
２－２－３　各　論 23
２－２－３－１　血液ガス 23
２－２－３－２　コリンエステラーゼ 42
２－２－３－３　グリコアルブミン 48
２－２－３－４　イオン化カルシウム 57
２－２－３－５　ヘモグロビン A1c　（HbA1c） 67
２－２－３－６　総カルシウム 79
２－２－３－７　総マグネシウム 89
２－２－３－８　血清鉄 99
２－２－３－９　尿素窒素 104
２－２－３－１０　インスリン 110
２－２－３－１１　C－ペプチド 119
２－２－３－１２　コルチゾール 136
２－２－３－１３　HDL-コレステロール、LDL-コレステロール 157
２－２－３－１４　実用および血清アルブミン 164
２－２－３－１５　尿アルブミン 172
２－２－３－１６　膵型アミラーゼ 186
２－２－３－１７　血清 C 反応性蛋白（CRP） 199
２－２－３－１８　リパーゼ 205
２－２－３－１９　尿中電解質成分 233
２－２－３－２０　尿中生化学成分 242
２－２－３－２１　血清無機リン 259
２－２―３－２２　血清リチウム（Li） 265

２－２―３－２３　血清総ビリルビン 279
２－２－４　国際標準化への対応 296
２－３　純物質系標準物質の研究開発 298
２－３－１　研究背景 298
２－３－２　研究担当者 299
２－３－３　C 反応性蛋白およびアルブミン 299
２－３－４　コルチゾール 307
２－３－５　今後の課題 310
２－４　実試料系標準物質の調査研究 312
２－４－１　総　括 312
２－４―２　各　論 315
２－４―２－１　抗核抗体(ANA) 315
２－４－２－２　リウマトイド因子(RF) 321
２－４－２－３　ジゴキシン 330
２－４－２－４　テオフィリン 337
２－４－２－５　プロラクチン(PRL) 344
２－４－２－６　黄体形成ホルモン(LH) 362
２－４－２－７　卵胞刺激ホルモン(FSH) 369
２－４－２－８　エストラジオール（E2） 375
２－４－２－９　黄体ホルモン（プロゲステロン） 387
２－４－２－１０　テストステロン 393
２－４－２－１１　甲状腺刺激ホルモン（TSH） 399
２－４－２－１２　サイログロブリン（Tg） 416
２－４－２－１３　フリーＴ３、フリーＴ４ 426
２－４－２－１４　Ｔ４，Ｔ３ 436
２－４－２－１５　ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG) 442
２－４－２－１６　α－フェトプロテイン（AFP） 474
２－４－２－１７　癌胎児性抗原（CEA) 510
２－４－２－１８　フェリチン 525
２－４－２－１９　ＣＡ１９－９ 554
２－４－２－２０　ＣＡ１２５ 558
２－４－２－２１　ＣＡ１５－３ 563
２－４－２－２２　β２－マイクログロブリン 568
２－４－２－２３　フローサイトメトリー 582
２－４－２－２４　FDP、D ダイマー 587
３．外部発表、講演等 605
４．謝　辞 609

１．事業目的および成果の概要

１－１　事業目的

健康診断や病院などの医療機関で行われる血液や尿等の臨床検査は、個人の健康管理、医学の基礎データ、医学研究の基本情報である。しかしながら、医療計量や医療検査機械システムにより得られる検査データは、測定機器間、測定方法間、検査機関間において相互に互換性が確保されていないのが現実である。このため、診断に用いる臨床検査データの基準値が病院ごとに異なる、あるいは個人の健康診断や臨床検査データの継続性が保てないなどの問題が存在し、膨大な臨床検査データが有効に活用されていないと考えられている。

本研究開発では、医療計量及び医療検査機械システムにおける測定結果を科学的に信頼性のあるものにし、かつ、検査機関間での互換性を持たせるため、基本的な臨床検査項目について高位標準物質から末端の検査機関で用いられる標準物質までのトレーサビリティ体系を構築することを目的とする。

この結果、得られたデータに科学的（計測学的）な信頼性を付与し、また、検査機関が異なっても互換性を確保することができるようになる。すなわち、臨床検査データの互換性が空間的にも（何処でも）、時間的にも（いつでも）確保できるようになり、臨床検査データに関して、医療の基礎情報としての信頼性が向上し、また、個人の健康管理データとしての連続性が確保されるようになる。これにより、以下の効果が期待できる。

①１回の検査結果でも、より適切な医療を実現できる。

②個人の長期間の検査データを健康管理や病気の診断等へ活用することができ、個人差を踏まえた適切な健康管理や保健指導及び医療の実現に大きく寄与することができる。

③現在行われている臨床検査の１割以上が不要な重複検査であるといわれているが、それを無くすことができる。

④日本の多くの企業が供給している医療検査機械システム（検査機器及び検査試薬）について世界で信頼を獲得することができ、国際競争力を強化することができる。

⑤本研究開発は、医療分野の研究開発にとって不可欠な検査データや健康状態等に係る日本全体としてのデータベースを構築するための基盤となる。(データに科学的な信頼性を付与し、検査機関毎のデータに互換性を確保することができることから、臨床検査結果を意味のあるデータ群として集積し、解析することにより有用な情報を得ることができるようになる。)

１－２　事業概要

本研究開発では、最終的には、国際的にも認められる臨床検査用標準物質の開発を目指す。３年間で実試料系標準物質としては 20 種類程度の開発を行う。これらは、初診時に必須な検査項目と内分泌疾患の病態識別、循環器系疾患や糖尿病患者の治療の判断に必須な項目等重要な項目で、いずれも臨床側から早急な標準物質供給が求められているものであり、また、生活習慣病の予防に必要な検査項目の多くをカバーするものである。また、現在、世界的にみても認証標準物質が開発されていないために、トレーサビリティ体系が確立されていない純物質系タンパク質を中心に、現在供給されているメーカーレベルの標準物質をトレーサビリティの確保された標準物質へ

引き上げることを目的に、３種類程度の純物質系標準物質を開発する。

さらに、検査項目の中で量的にそのほとんどを占めるが、現時点ではすぐに高位の標準物質開発に着手することが困難な検査項目については、標準物質の候補となる製造業者の校正物質の調査を行い、それらの中から共同実験により標準物質の候補となる校正物質の選定を行う。

研究開始時点で研究開発等を計画した標準物質の具体的な項目に関しては、表１にまとめた。本研究開発により、初期診療に必要な項目の大部分および臨床側から早急な標準物質の供給が求められている検査項目について標準物質を整備することが出来る。また、一部の項目については、国際単位系にまで遡及できる、理想的な臨床検査のトレーサビリティ体系を社会に示すことができる。

計量標準・標準物質の整備は国等により行われているところであるが、特に安全・安心な国民生活の実現に向けた臨床検査分野の計量標準・標準物質に関しては未整備な部分が多く、速やかな整備が求められている。本事業により、計測のトレーサビリティをほとんど認識していなかった臨床検査分野の関係者にその重要性を認識させることができる。

（注）

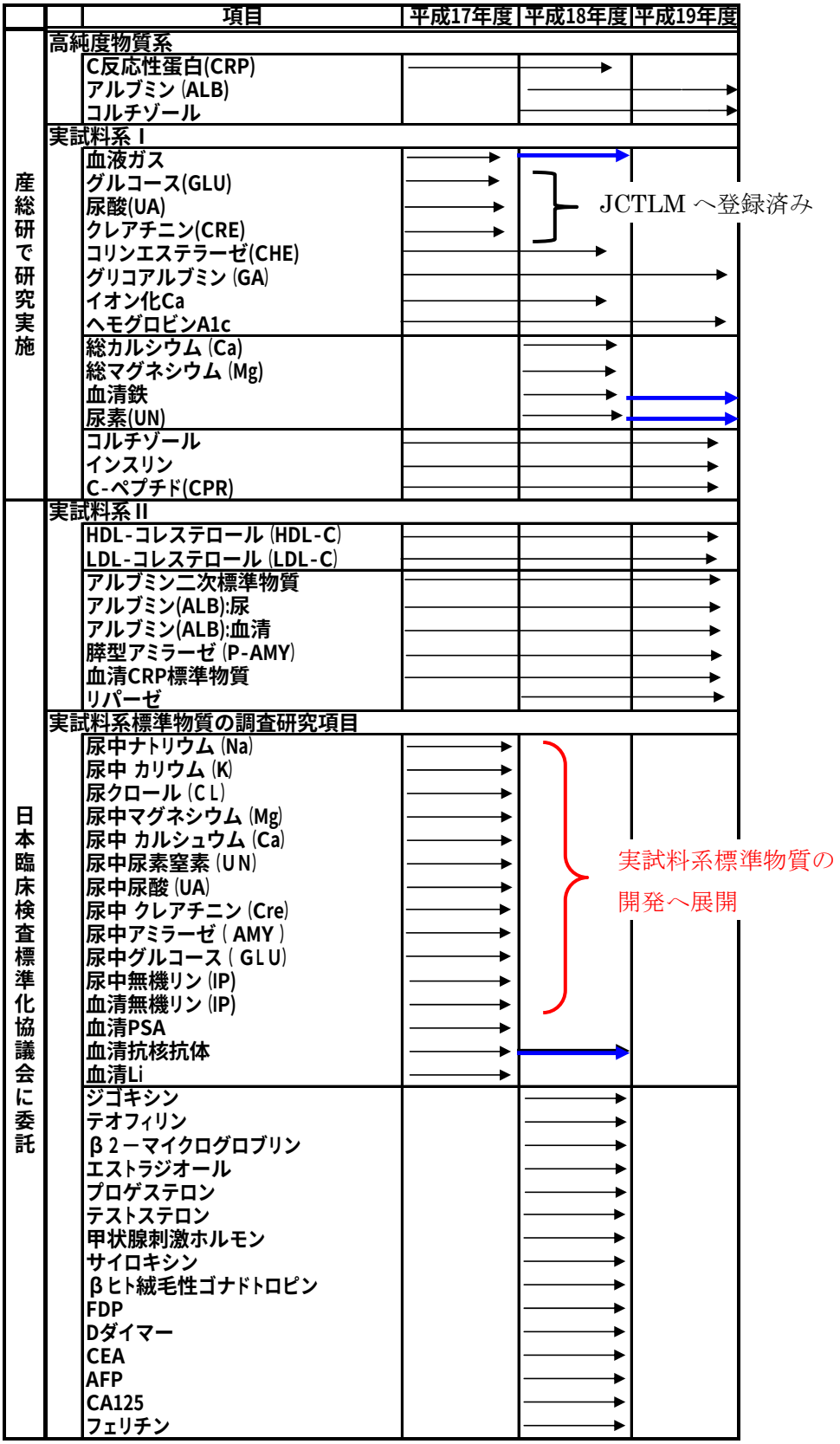
①標準物質：下位の標準物質や事業者の校正物質に値付けを行うため、または臨床検査実施機関で測定機器の校正のための基準になる物質であり、事業者や臨床検査機関が共通に使用できるもの。

②実試料系標準物質：実際の試料と類似した組成を持ち、その中の成分濃度が決定された標準物質。臨床検査の分野では、血清、血漿、尿などが分析試料であるため、標準物質もこれらの試料をもとに調製される場合が多い。

③純物質系標準物質:確定した純度を有する物質。それらを単純に溶解した標準液もここに含む。

④校正物質：メーカーが独自に設定したもので、主に自社の臨床検査機器・試薬の値付けに用いたり、検査機関等で自社の臨床検査薬を使用する際の校正用として供給する物質をここでは区別のためこのように呼ぶ。

表１　本研究で開発する標準物質一覧



１－３　成果の概要

初診時に必須な検査項目のうち標準物質が未整備なものや臨床側より要望の高い項目について、高位標準物質から末端ユーザーまでのトレーサビリティの構築を念頭に、それぞれ実試料系標準物質および純物質系標準物質の開発・整備を行った。標準化基本検討委員会において全体の統括を行い、開発の方向性についての合意を得た上で、最終的には、国際的にも認められる臨床検査用標準物質の開発を目指した。また、現時点で高位の標準物質開発に着手することが困難な項目については、現状の問題点を把握して、開発についての見通しを得ることを目的として調査研究を行った。具体的な項目は以下の通りである。

（１）「標準化基本検討委員会」

平成 18 年 4 月 11 日、12 月 26 日および平成 19 年 2 月 6 日に標準化基本検討委員会を開催し、標準物質開発計画（表２）、進捗状況、今後の方向性についての協議を行った。

（２）「実試料系標準物質の研究開発」

実試料系標準物質の研究開発については以下のごとくまとめられる。

・血液ガス測定用標準物質、グリコアルブミン測定用常用標準物質、イオン化カルシウム測定用常用標準物質、総カルシウム測定用常用標準物質、および総マグシウム測定用常用標準物質に関しては、それぞれのプロトタイプを作製し、実試料との反応性を比較することによって、日常検査法とのコミュータビリティがあることを確認した。

・血清コリンエステラーゼ測定用標準物質のプロトタイプの作製にあたり、反応性評価試験を行い、ヒト血清系２標品を候補品として選定した。

・HbA1c 測定用常用標準物質のプロトタイプについて、日常検査法による総合的な不確かさの評価実験を行い、不確かさの評価基準を設定した。

・血清鉄測定用常用標準物質、尿素窒素測定用常用標準物質についてはプロトタイプを作製し、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

・インスリン、C-ペプチド、コルチゾール、HDL-コレステロール、および LDL-コレステロールに関しては、血清中のそれぞれの成分を測定する際に、データの収束性を可能にするような実試料系標準物質の作製を検討した。

・実用および血清アルブミン、尿アルブミンに関しては、ヒト血清アルブミンから高純度に~~分離~~精製した単量体アルブミンを原料にして試作した３種類の臨床検査用アルブミン標準物質（実用標準物質、血清用常用標準物質、尿用常用標準物質）を用いて、市販測定キットの測定特性を検討し、精確さのトランスファーラビリティを確認することができた。

・膵型アミラーゼ活性測定の常用基準法(案)を設定し、JC・ERM（Lot 005）が膵型 AMY 活性測定の常用標準物質として使用できることを確認した。

・血清 C 反応性製蛋白（CRP）常用標準物質候補品を作製し、その基本性能を確認した。

・血清リパーゼ活性測定の標準化に関しては、JSCC 常用基準法（案）を準備することができた。

・尿中電解質成分は、ナトリウム、カリウム、クロールを測定項目として、水溶液ベースの尿用標準物質候補品を作製した。試薬間測定値の互換性は得られており、収束性は確認できるが、尿用標準物質候補品を用いた補正を行うことで、さらにその収束性は向上した。

・尿中生化学成分用実試料系標準物質を作製して検討した結果、尿中アミラーゼ以外は標準候補

品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。
・血清無機リン及び血清リチウム用実試料系標準物質を試作して検討した結果、標準候補品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。
・血清総ビリルビン用実試料標準物質候補品のプロトコルの作製を目的とする研究を実施し、実試料標準物質候補品の規格が確立できた。

今後の課題としては、総カルシウムおよび総マグネシウムについては、次回 Cycle の JCTLM ノミネーションを準備する。また、グリコアルブミン、血清鉄、尿素窒素、アルブミンについては、実試料標準物質の設定し、JCTLM へのノミネーションを予定する。グリコアルブミン、血清鉄、尿素窒素、インスリン、C-ペプチド、コルチゾール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、アルブミン、血清 C 反応性蛋白、尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清リチウム(Li)、血清無機リン実試料標準物質の試作を予定する。

（３）「純物質系標準物質の研究開発」

C 反応性蛋白（CRP）認証標準物質開発を目標に、候補品として遺伝子組換え型ヒト CRP 緩衝溶液を選定した。蛋白質の濃度決定方法として、アミノ酸分析法、窒素分析法の適用について検討し、同位体希釈質量分析法（ID-MS）によるアミノ酸定量法について検討を行った。予備検討において、アミノ酸分析と窒素分析法でほぼ同程度の結果を得られることが確認できた。また、逆相およびゲルろ過クロマトグラフィーおよびアフィニティクロマトグラフィによる安定性試験方法を確立し、保存温度を変えて安定性試験を実施している。

蛋白質の濃度決定法に関しては、ID-MS を用いたアミノ酸分析の基礎的検討を行い、より精確な値付けを可能にする体制を整えた。今後は複数の測定法（ID-MS、アミノ酸分析、窒素分析）による測定値の相互比較、および蛋白質 CRM を用いた確認により、測定値の正確性を向上させる。CRP の安定性評価法に関しては、逆相 HPLCの系を確立して、日間誤差の補正方法のための方針および補正用外部標準物質の検討を終了した。また、予備安定性試験の結果、37℃ ストックサンプルの安定性評価に関して測定方法によって顕著な差が見られた。この結果は、今後 CRP の安定性評価における方針を策定していく上で大いに参考になる。

コルチゾールに関しては、値付け方法について検討した結果、凝固点降下法などの一次標準測定法による直接の純度決定は困難であるとの結論を得たため、少量の高純度物質を調製し、これを基準にした値付けによる標準物質開発について今後検討していくことにした。

（４）「実試料系標準物質の調査研究」

本調査研究では、基準となり得る公的な生物学的標準物質（NIST・WHO・IRMM など）（基準１）の有無、および純物質の入手の可否（基準２）を指標として各項目を調査・分類し、標準物質候補品が作製可能と判断できた場合には、①標準物質候補品を作製、②標準物質候補品の評価、③実試料（患者血清・患者尿）を用いての反応性の確認、というステップで実試料系標準物質の開発の可能性について検討を行った。

平成 18 年度に調査研究を行った 17 項目に関しては、標準化のための調査･分類を終了して、必要に応じて標準物質候補品を選定した。さらに、反応性を確認するための実検体を集めて、実

験及び結果の解析を行ったが、概ね標準化に向けた結論が得られている。なお、標準物質候補品作製は滞りなく準備できたが、標準物質候補品の反応性評価試験に必要な実試料（患者血清・患者尿など）の入手には、入手先の倫理委員会の許可が必要であったために、多大な時間を要した。

調査により標準物質候補品が作製可能と判断した項目は、RF・抗核抗体・ジゴキシン・テオフィリン・エストラジオール・プロラクチン・hCG・TSH・FDP・D ダイマー・CEA・AFP・フェリチンである。これらの項目については、標準物質候補品を作製し検証実験を行った。また、文献調査項目は、FSH・LH・テストステロン・サイログロブリン・T4・T3・FT４・FT3・CA19-9・CA125・CA15-3・β２マイクログロブリンである。各社試薬の調査・各社間の相関・サーベイ（臨床検査精度管理調査）結果・標準化に向けた実行計画・課題について調査した。

１－４　目的に照らした達成状況

本年度において実試料系標準物質の開発を予定している 17 項目の標準物質に関しては、ほぼ予定通り進捗した。グルコース、尿酸、クレアチニンについては開発を完了して、最終目標である JCTLM（検査医学におけるトレーサビリティに関する合同委員会）データベースへ 2006 年 4 月に登録申請した。また、当該年度調査研究を行った 17 項目のうち、尿用標準物質および血清無機リン、リチウムの項目については、平成 17 年度の調査研究の結果から標準物質開発への見通しが得られ、本年度より尿用の実試料系標準物質の開発研究を行っているものである。

表 2　平成 18 および 19 年度開発研究計画

		項目	平成17年度	平成18年度	平成19年度
産総研で研究実施	高純度物質系				
		C反応性蛋白 (CRP)	→	→	
		アルブミン (ALB)		→	→
		コルチゾール		→	→
	実試料系 I				
		血液ガス	→	→	
		グルコース(GLU)	→		
		尿酸(UA)	→		
		クレアチニン(CRE)	→		
		コリンエステラーゼ(CHE)	→	→	
		グリコアルブミン (GA)	→	→	→
		イオン化Ca	→	→	
		ヘモグロビンA1c	→	→	⇒
		総カルシウム (Ca)		→	
		総マグネシウム (Mg)		→	
		血清鉄		→	⇒
		尿素(UN)		→	⇒
		コルチゾール	→	→	→
		インスリン	→	→	→
		C-ペプチド(CPR)	→	→	→
		尿中ナトリウム (Na)		→	→
		尿中 カリウム (K)		→	→
		尿クロール (CL)		→	→
		尿中マグネシウム (Mg)		→	→
		尿中 カルシウム (Ca)		→	→
		尿中尿素窒素 (UN)		→	→
		尿中尿酸 (UA)		→	→
		尿中 クレアチニン (Cre)		→	→
		尿中アミラーゼ (AMY)		→	→
		尿中グルコース (GLU)		→	→
		尿中無機リン (IP)		→	→
		血清無機リン (IP)		→	→
		血清ビリルビン (BIL)		→	→
		血清リチウム (Li)		→	→
日本臨床検査標準化協議会に委託	実試料系 II				
		HDL-コレステロール (HDL-C)	→	→	→
		LDL-コレステロール (LDL-C)	→	→	→
		アルブミン標準物質 (実用)	→	→	⇒
		アルブミン(ALB):尿標準物質 (常用)	→	→	⇒
		アルブミン(ALB):血清標準物質 (常用)	→	→	⇒
		膵型アミラーゼ (P-AMY)	→	→	→
		血清C反応性蛋白 (CRP) 標準物質	→	→	→
		リパーゼ		→	→
	実試料系標準物質の調査研究項目				
		尿中ナトリウム (Na)	→		
		尿中 カリウム (K)	→		
		尿クロール (CL)	→		
		尿中マグネシウム (Mg)	→		
		尿中 カルシウム (Ca)	→		
		尿中尿素窒素 (UN)	→		
		尿中尿酸 (UA)	→		
		尿中 クレアチニン (Cre)	→		
		尿中アミラーゼ (AMY)	→		
		尿中グルコース (GLU)	→		
		尿中無機リン (IP)	→		
		血清無機リン (IP)	→		
		血清ビリルビン (BIL)	→		
		血清前立腺特異抗原 (PSA)	→		
		血清抗核抗体	→	→	
		血清リチウム (Li)	→		
		リウマチ因子 (RF)		→	
		ジゴキシン		→	
		テオフィリン		→	
		プロラクチン		→	
		黄体形成ホルモン		→	
		卵胞刺激ホルモン		→	
		エストラジオール		→	
		甲状腺刺激ホルモン		→	
		サイロキシン		→	
		サイログロブリン		→	
		β2－マイクログロブリン		→	
		ヒト絨毛性ゴナドトロピン		→	
		癌胎児性抗原 (CEA)		→	
		α－フェトプロテイン (AFP)		→	
		フェリチン		→	
		フローサイトメトリー(FCM)		→	

２．成果の詳細

２－１　標準化基本検討委員会

２－１－１　目　的

標準化基本検討委員会では、本委託事業において研究開発するメーカー標準品、実試料系標準物質あるいは純物質系標準物質を現場レベルの臨床検査ラボから国家計量標準までのトレーサビリティチェーンの各段階で活用できるようにするため、実試料系および純物質系標準物質の各開発および調査研究の方向性を検討し、進捗状況を報告・審議し、最終的に開発したものの妥当性を審議することを責務としている。本委託事業で研究する純物質系標準物質開発と実試料系標準物質開発を統括するとともに、それらを結びつけるための活動、また、実際にユーザーに供給される試薬メーカーレベルの標準物質までのトレーサビリティの構築を行うとともに、専門家や標準物質のユーザーなどの意見をとりまとめ、よりよい標準物質開発に反映させる。また、開発した標準物質について、国際的な認知を受けるため、「検査医学におけるトレーサビリティに関する合同委員会 (Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine: JCTLM)」の標準物質データベースへのノミネーション作業を行う。

２－１－２　委員会構成

＜委員長＞

濱﨑　直孝	長崎国際大学　薬学部　教授

＜委員＞

今井　秀孝	日本臨床検査標準協議会　会長
渡邊　清明	日本臨床検査医学会　（国際医療福祉大学　教授）
横川　信幸	（社）日本分析機器工業会　医療機器委員長
千葉　光一	独立行政法人　産業技術総合研究所　計測標準研究部門　副部門長
吉田　雅彦	経済産業省　産業技術環境局知的基盤課　課長
高木　康	日本臨床検査医学会　（昭和大学医学部　教授）
桑　克彦	日本臨床検査標準協議会　認証委員会委員長　（筑波大学大学院　准教授）
中原　一彦	日本医科器械学会　（独立行政法人　大学評価・学位授与機構　教授）
登　勉	日本臨床化学会　学術連絡委員会　委員長　（三重大学　医学部　教授）
細萱　茂実	日本臨床衛生検査技師会　（山梨大学附属病院　検査部）
大和　隆	日本臨床検査薬協会　技術委員会　副委員長
佐守　友博	日本衛生検査所協会　理事

＜ｵﾌﾞｻﾞｰﾊﾞｰ＞

高橋　昌行	経済産業省　産業技術環境局　知的基盤課
長谷　亮輔	NEDO　研究開発推進部　主幹
玉木　敏夫	NEDO　研究開発推進部　知的基盤グループ　主査

＜事務局＞

藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会　事務局長

２－１－３　活動総括

平成 18 年 4 月 11 日に第 1 回委員会を開催し、各研究実行グループからの研究計画の提案を受けて、以下の方針を決定した。また、12 月 26 日および平成 19 年 2 月 6 日に第 2 回および第 3 回委員会を開催し、標準物質開の進捗状況と今後の方針についての協議を行った。

純物質系標準物質開発としては、前年度中心的に実施してきた CRP の開発に関して、試料の性状、値付けの方法（アミノ酸組成分析・窒素含量分析・乾燥質量)、安定性や均質性試験等についての報告をうけ、本年度は特に安定性試験や値付けの方法を研究して行く。実試料系標準物質の開発研究に関して、17 項目の標準物質開発計画を承認して、本年度中に血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウム、HbA1c の JCTLM への登録申請を目指す。調査研究に関しては、上記 17 項目に関して標準化に向けた問題とその解決法に調査研究を行うとともに、当該プロジェクトには含まれないが関連する項目がある場合には併せて検討を行う。また、これらの開発研究を実際に行うに当たり、表 1 に示す研究実施体制を組む。

表 1　研究実施体制

臨床検査実用標準物質開発研究推進体制

	リーダ（併任研究者）	対象（H17年度開始）	標準化検討機関	対象（H18年度開始）	標準化検討機関
純物質系	**高津　章子　（産総研）** 加藤　尚志　（産総研） 加藤　愛　（産総研）	CRP アルブミン コルチゾール	JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会）		 JSCC（糖尿病関連指標専門委員会）
実試料系Ⅰ	**桑　克彦　（筑波大）** **≪代謝成分系標準物質≫** 福永　壽晴　（金沢医大） 星野　忠夫　（病態解析研究所） 武井　泉　（日本歯科大）	血液ガス グルコース クレアチニン 尿酸 コリンエステラーゼ イオン化Ca ヘモグロビンA1c グリコアルブミン	JSCC（血液ガス・電解質専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（血液ガス・電解質専門員会） JSCC（糖尿病関連指標専門員会） JSCC（糖尿病関連指標専門員会）		JSCC（POCT専門員会） JSCC（POCT専門員会）
	藤橋　和夫　（JCCLS） **≪電解質系標準物質≫**			総Ca 総Mg 尿素窒素	JSCC（POCT専門員会） JSCC（POCT専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会）
	千葉　光一　（産総研） **≪ホルモン系標準物質≫** 竹越　博一　（筑波大） 桑　克彦　（筑波大）	コルチゾール インスリン CPR	JDS（糖尿病関連検査委員会） JDS（糖尿病関連検査委員会）		JSCC（糖尿病関連指標専門委員会） JSCC（糖尿病関連指標専門委員会）
実試料系Ⅱ	**濱崎　直孝　（九大）** **≪脂質系標準物質≫** 櫻林　郁之介　（自治医大） 桑　克彦　（筑波大）	HDL-コレステロール LDL-コレステロール	臨床検査医学会JSLM（標準委員会） 臨床検査医学会JSLM（標準委員会）		
	長崎　英生　（カイノス） **≪タンパク・酵素系標準物質≫** 伊藤　喜久　（旭川医大） 藤田　孝　（藤田保健衛生大病院）	アルブミン二次標準物質 アルブミン（血清） アルブミン（尿） 膵型アミラーゼ 血清CRP標準物質	JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会） JSCC（酵素・試薬専門員会）	リバーゼ	JSCC（酵素・試薬専門員会）
調査研究	**笠　貴　（三重大学）** **藤橋　和夫　（JCCLS）** **大和　隆（臨薬協）** 桑　克彦　（筑波大） 森下　芳孝　（名古屋大病院） 竹越　博一　（筑波大） 小田桐　恵美　（東京女子医大） 家入　蒼生夫　（独協医大） 加野　象次郎　（東京逓信病院） 福武　勝幸　（東京医大） 熊谷　俊一　（神戸大） 小柴　賢洋　（兵庫医科大） 富永　真琴　（山形大）	≪調査研究項目≫ 尿中ナトリウム（Na） 尿中 カリウム（K） 尿クロール（Cl） 尿中マグネシウム（Mg） 尿中 カルシュウム（Ca） 尿中尿素窒素（UN） 尿中尿酸（UA） 尿中 クレアチニン（CRE） 尿中アミラーゼ（AMY） 尿中グルコース（GLU） 尿中無機リン（IP） 血清無機リン（IP） 血清PSA（前立腺性特異抗原） 血清抗核抗体 血清Li	JCCLS 臨床検査薬協会	≪調査研究項目≫ ジゴキシン テオフィリン β２－マイクログロブリン エストラジオール プロゲステロン テストステロン 甲状腺刺激ホルモン サイロキシン βヒト毬毛性ゴナドトロピン FDP Dダイマー CEA AFP CA125 フェリチン	JCCLS 臨床検査薬協会

２－２　実試料系標準物質の研究開発

２－２－１　総括

１．研究の進め方

実試料系標準物質の研究開発は、学協会の専門委員会での作業との連携による方法ならびに標準化基本検討委員会の中に設置ワーキンググループ(WG)による方法で行った

なお、本実施の詳細については２－２－３項に記載した。

このうち日本臨床化学会（JSCC）の専門員会と連携した測定項目は、血液ガス、コリンエステラーゼ、グリコアルブミン、イオン化カルシウム、ヘモグロビン A1c(HbA1c)、総カルシウム、総マグネシウム、アルブミン、膵型アミラーゼ、血清 C 反応性蛋白(CRP)、リパーゼおよび血清リチウム(Li)である。また、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）の標準物質小委員会との連携した測定項目は、血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウムおよびヘモグロビン A1c(HbA1c)である。

標準化基本検討委員会を設置し、検討のための WG を関連の学協会との協力で組織した測定項目は、インスリン、C-ペプチド、コルチゾール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、アルブミンおよび膵型アミラーゼである。

なお、実試料標準物質のプロトタイプの調整あるいは作製については、有限責任中間法人 HECTEF スタンダードレファレンスセンター、旭化成ファーマ㈱、シスメックス㈱およびオリエンタル酵母工業㈱の協力を得た。

２．結果のまとめ

実試料系標準物質の研究開発の結果は以下のごとくである。

（１）血液ガス

１）血液ガス測定用の標準物質のプロトタイプについて、日常検査法でのコミュータビリティ試験を行った。

２）標準物質のプロトタイプは、実試料標準物質系であるため、目的とする検体とマトリックスと反応性が同等でなければならない。このコミュータビリティの評価には、NCCLS のガイドラインにより実施し、さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。

３）その結果、代表的測定機３種間の回帰式において、*p*CO2, *p*O2, *p*H のいずれにおいても、標準物質プロトタイプと実試料の回帰式は同一で、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていた。

４）本血液ガス測定用の標準物質のプロトタイプには、コミュータビリティがあることが確認できた。

（２）コリンエステラーゼ

１）血清コリンエステラーゼ測定用標準物質のプロトタイプの作製にあたり、候補品の選定を行った。

２）候補品の選定には、反応性評価試験を行った。
３）反応性評価試験は、市販の試薬キットを用いて、精密さの試験と残差を用いた評価試験により行った。
４）候補品４種は、ヒト血清系が２標品、遺伝子組換え体が２標品であった。
５）候補品について、最終的に反応性評価試験で適となった標品は、ヒト血清系の２標品であった。
６）血清コリンエステラーゼ測定用標準物質のプロトタイプの作製には、反応性評価試験で適となったヒト血清系の２標品が適用可能となった。

（３）グリコアルブミン

１）グリコアルブミン測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、日常検査法でのコミュータビリティの試験を行った。
２）グリコアルブミン測定用常用標準物質のプロトタイプの作製は、性状規格に基づくヒト血清を用いて、３レベルを調製し、基準測定操作法にて値付けを行った。
３）得られたプロトタイプについて、均質性と安定性およびコミュータビリティ試験を行った。
４）均質性試験では、各測定グループ間で有意差は見られなかった。
５）保存安定性は、―70℃保存で１年は安定であった。
６）実試料との反応性の比較をコミュータビリティ試験で確認したとこと、同等の反応性を有していたことが確認できた。

（４）イオン化カルシウム

１）イオン化カルシウム測定用常用標準物質のプロトタイプ日常検査法でのコミュータビリティの試験を行った。
２）コミュータビリティの評価には、NCCLS のガイドライン二より行い、さらに Passing – Bablok の直線回帰式と、残差プロットを用いて評価した。
３）その結果、日常検査法との関係において、標準物質のプロトタイプと実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていたことから、本標準物質のプロトタイプにはコミュータビリティがあることが確認できた。

（５）ヘモグロビン A1c（HbA1c）

１）HbA1c 測定用常用標準物質のプロトタイプについて、日常検査法による総合的な不確かさの評価実験を行い、この結果を用いて HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価基準の設定を行った。
２）HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価基準設定試験の実施にあたっては、HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法により、計 31 施設（ユーザー22、メーカー９）おいて HPLC 法（3 施設で 14 種）、免疫法（17 施設で 21 種）および酵素法（１施設で４種）により以下の条件で測定を行った。
３）測定試料は、患者全血試料、ただし、遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもので、HbA1c 濃度値は HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)の認証値に近似した濃度の５レベルとしたもの(HCTEF スタンダードレファレンスセンターで調製)を用いた。

4）測定は各レベルについて一日２重測定を 15 日間行い、各測定グループ（メーカーおよび測定法）別の平均値、標準偏差をそれぞれ求めた。

5）測定試料の参考値は、JDS 校正の KO500 法（HECTEF スタンダードレファレンスセンターで実施）により一日２回測定を２日間行って求めた。

6）統計処理は、測定値についての統計処理は、施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析によった。

7）総合的な不確かさの評価は、ISO の認証標準物質の使い方にしたがい、選択された測定グループについて評価パラメーターを算出した。評価に際しては、一日に繰返し測定した平均値で評価する場合と連日に繰返し測定した平均値で評価する場合に分けて、総合的な不確かさの評価基準幅をそれぞれ求めた。

8）測定試料の５レベルの測定値について施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析により統計処理を行い、実験データから推定された変動成分別 SD と CV をメーカーの測定法間変動、測定グループ間変動、日間変動、日内変動および総合変動（各変動の分散の２乗和の平方根）についてそれぞれ算出した。その結果、測定グループ間変動の方がメーカーの測定法間変動より大きかった。また、日間変動の方が日内変動より大きかった。このうち日間変動の寄与率が大きかった。

9）標準物質の認証値の不確かさ（拡張不確かさ）から標準不確かさを得、単日反復測定および連日反復測定（10 日間）での標準不確かさと拡張不確かさをそれぞれ算出した。その結果、単日反復測定での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.3%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.6%値、レベル５で±0.8%値となった。また、連日反復測定（10 日間）での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.2%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.5%値、レベル５で±0.7%値となった。

（6）総カルシウム

1）総カルシウム測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、プロトタイプについて日常検査法でのコミュータビリティ試験を行なった。

2）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

3）濃度レベルは２濃度とした。調製した試料について均質性と安定性を調べた。その結果、各グループの平均値には有意な差は見られなかった。また、保存安定性試験では 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

4）表示値は、NIST 原子吸光光度法にて行い、併せて不確かを算出した。

5）得られた表示値についての妥当性の評価は、JCTLM による比較評価試験方法に従って行った。その結果、バイアスは２%以内となった。

6）コミュータビリティの評価は、NCCLS のガイドラインにより行った。さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。その結果、標準物質のプロトタイプ及び実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていることから、本標準物質のプロトタイプのコミュータビリ

ティが確認できた。

（7）総マグネシウム

1）総マグシウム測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、プロトタイプについて日常検査法でのコミュータビリティ試験を行なった。

2）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

3）濃度レベルは２濃度とした。調製した試料について均質性と安定性を調べた。その結果、各グループの平均値には有意な差は見られなかった。また、保存安定性試験では 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

4）表示値は、NIST 原子吸光光度法にて行い、併せて不確かを算出した。

5）得られた表示値についての妥当性の評価は、JCTLM による比較評価試験方法に従って行った。その結果、バイアスは２％以内となった。

6）コミュータビリティの評価は、NCCLS のガイドラインにより行った。さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。その結果、標準物質のプロトタイプ及び実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていることから、本標準物質のプロトタイプのコミュータビリティが確認できた。

（8）血清鉄

1）血清鉄測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製を行った

2）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

3）濃度レベルは２濃度とした。値付けには ICSH による国際標準法によった。併せて不確かさを算出した。

4）今後は、均質性、安定性、表示値の評価およびコミュータビリティについて実施する。

（9）尿素窒素

1）尿素窒素測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製を行った

2）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

3）濃度レベルは２濃度とした。値付けには ICSH による国際標準法によった。併せて不確かさを算出した。

4）今後は、均質性、安定性、表示値の評価およびコミュータビリティについて実施する。

(10) インスリン

1）血清中のインスリン測定について、データの収束性を可能にするための実試料系標準物質の作製について検討した。

2）実試料系標準物質を検索する目的で、国際標準物質、市販純物質を標準物質候補として試料を作成し、あわせて健常人および患者検体血清を測定した。

3）現在の市販試薬では１キットを除くと血清値は収束していることが確認された。

4）実試料系標準物質としての検討では、調整試料、溶解物質等のマトリックスの影響は確認され

なかった。また反応性の違いで、血清検体と挙動が類似しているグループ、調製試料と血清検体と挙動が類似しないグループ、その他の３つのグループにわけられることが示唆された。

(11) C-ペプチド

１）C-ペプチドの測定について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための C-ペプチドの実試料系標準物質の作製について検討した。

２）実試料系標準物質候補を探索する目的で、国際標準品、市販純物質、患者プール血清を用いて、各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。

３）実試料系標準物質の候補としてプール血清が有効である事が確認された。

(12) コルチゾール

1) 血清中のコルチゾール測定について、データの収束性を可能とするための実試料標準物質の作製について検討した。

2) 実試料標準物質を探索する目的で 4 種類の市販純物質、東ソー社コルチゾール測定キットキャリブレーターを標準物質候補として共同実験を実施し、各メーカーキット間の測定値収束性への校正効果を検討した。

3) 各標準物質候補品を用いて校正した結果、各キット間の測定値は拡散傾向にあり、有用性は見出せなかった。

4) 今後は共同実験により値付けしたプール血清を用い、実試料標準物質候補品としてデータ収束の有効な手段となりうるか検証することが望まれる。

(13) HDL-コレステロール、血清 LDL-コレステロール

１）血清 HDL-コレステロール (HDL-C)、血清 LDL-コレステロール (LDL-C) の測定について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするため平成 17 年度の検討結果に基づいて HDL-C 及び LDL-C の実試料系標準物質候補品 12 種類（NCCLS(C37-A)に準じて作製した６種類、NIST1951b ２種類、新鮮人プール血清４種類）の効果について共同実験を行い検討した。

２）HDL-C については、11 社 12 種類の試薬を対象に各メーカー指定のキャリブレーター及び実試料系標準物質候補品 12 種類を用い人血清測定値の収束度を観た結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で、以下、各メーカーの指定キャリブレーター、NCCLS(C37-A)に準じて作製した候補品、NIST1951b の順となった。平成 17 年度の検討で良好であった NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についての今回の結果は、候補品の保存安定性または作製時の凍結融解による影響、測定に供した新鮮人血清 10 検体の濃度分布による影響等と推測している。

３）LDL-C については、９社９試薬の試薬を対象に各メーカー指定のキャリブレーター、及び実試料標準物質候補品 12 種類を用い人血清測定値の収束度を観た結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で、以下、各メーカー指定のキャリブレーター、NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品、NIST1951b の順となった。平成 17 年度の検討でロット間差があったものの良好な収束度が得られた NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についての今回の結果は、HDL-C と同様な原因が考えられる。

４）以上の結果から、新鮮人プール血清が実試料標準物質として最も適していることが分かっ

た。また、NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についても、作製当初は良好な結果が得られたことを考えれば、人プール血清の作製方法、保存方法についての問題点を解決することで、実試料系標準物質候補品の作製が可能となると考える。

(14) 実用および血清アルブミン

1）ヒト血清アルブミンから高純度に分離精製した単量体アルブミンを原料にして試作した３種類の臨床検査用アルブミン標準物質（実用標準物質、血清用常用標準物質、尿用常用標準物質）を用いて、市販測定キットの測定特性を検討した。

2）実用標準物質については、その下位に位置する血清用常用標準物質および尿用常用標準物質へ、尿用常用標準物質から試薬校正物質（市販キット添付校正物質）への値のトランスファーラビリティを確認することができた。

3）今回作製した実用および血清常用標準物質を用いたトレーサビリティ連鎖が成立しない原因が日常検査法のアルブミン特異性に起因することが確認できた。

4）改良 BCP 法はアルブミン特異性の高く、本法を採用すればトレーサビリティ連鎖確保の可能性が示唆された。

(15) 尿アルブミン

1）ヒト血清アルブミンを高度に精製して純度 95%以上の単量体ヒトアルブミンを得た。

2）尿アルブミン常用標準物質の品質規格を策定した。

3）高純度の単量体ヒトアルブミンを用いて尿アルブミン常用標準物質プロトタイプ **II** を作製した。このものは策定した品質規格に適合した。

4）標準物質の値付けは国際的常用標準物質である CRM470 を上位物質として暫定的に実施した。将来的には現在開発中のヒトアルブミン実用標準物質を上位標準物質として値付けする。

5）常用標準物質の評価を実施し、尿中アルブミンおよび尿総タンパク質測定のための標準物質として適していることを確認した。

(16) 膵型アミラーゼ

1）膵型アミラーゼ活性測定の常用基準法設定の基本方針は、抗ヒト S-AMY 抗体を用いて S 型アミラーゼ活性を阻害した後、残存した膵アミラーゼの活性を総アミラーゼ活性測定 JSCC 勧告法で行うことを基本とした。

2）２社、4 種類の抗ヒト S-AMY 抗体による S-AMY 活性阻害条件の検討を実施し、P-AMY 活性に全く影響なく、S-AMY 活性を 95%以上阻害する条件を確立した。しかし、阻害率 95%以上が妥当かどうかについては今後の課題である。

3）抗ヒト S-AMY 抗体は被検体に予め添加処理するのではなく、アミラーゼ活性測定試薬を添加する方法とした。

4）JC・ERM（Lot 005）は、膵型 AMY 活性測定の常用標準物質として使用できることが確認できた。

(17) 血清 C-反応性蛋白

1）CRP 常用標準物質候補品を作製し、その基本性能を確認した。

2）その結果、平成 17 年度成果報告書に記載の標準物質規格満たしていた。５社の市販 CRP

測定試薬を用い、患者血清 60 例を測定し、その測定値を本標準物質候補品で補正を行ったところ、各社試薬間のばらつきが CV 値にして 5.0%から 1.5%に縮小し、測定値の収束効果が確認できた。

3）CRM470 を基準に作製されている各社標準物質によりキャリブレーションを行い患者血清を測定した場合の相関係数は r=0.998～1.000、本標準物質候補品を用いてキャリブレーションを行い患者血清を測定した場合の相関係数は r=0.998～1.000 と、CRM470 と同等の結果を得られることが確認できた。

(18) リパーゼ

1）日本臨床化学会リパーゼプロジェクト委員会では、血清リパーゼ活性測定の標準化を目的として、JSCC 常用基準法を設定するための作業を行い、JSCC 常用基準法（案）を準備することができた。

2）今回は、この JSCC 常用基準法（案）の測定値を日常検査法へ橋渡しするための標準物質を設定するための作業として、標準物質候補品の酵素標準物質（JC-ERM：Lot 005）とヒト血清との反応性試験を行った。その結果、JC-ERM はヒト血清と反応性が異なることが確認された。そこで、本 JSCC 常用基準法（案）を改良することになった。

3）JSCC 常用基準法（案）を用いて血清リパーゼの基準法を求めたところ、7～41U/l であった。

(19) 尿中電解質成分

1）尿中電解質成分について、「水溶液ベースの尿用標準物質候補品を調製・使用し、各社装置のデータ収束性の向上を評価、検証する」ことを目的とした研究を実施した。

2）測定項目は日常検査で汎用されている項目：ナトリウム、カリウム、クロールとした。

3）本年度は昨年度の検討結果を踏まえて、水溶液ベースの尿用標準物質候補品を作製し、それにより検量線補正することで収束性向上について検討した。方法は各社の測定のプロトコルに従い患者尿 25 例を測定した。

解析方法は各装置間の収束性を CV により検証した。また、反応性評価は、市販キャリブレーターにより較正した各社装置で尿用標準物質候補品を測定し、その測定値の CV として評価した。さらに、トレーサビリティ体系の上位測定法による測定値と各社装置による測定値との相関係数の傾きの CV から尿用標準物質候補品による収束性を評価した。

4）その結果、試薬間測定値の互換性は得られており、収束性は確認できるが、尿用標準物質候補品を用いた補正を行うことで、さらにその収束性は向上した。

(20) 尿中生化学成分

1）尿中生化学成分について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための各項目の実試料系標準物質について検討した。

2）測定試薬を販売しているメーカーを中心にワーキンググループを設け、各項目の実試料系標準物質の性状規格、濃度設定を検討した。

3） 事前検討において決定した各項目の実試料標準物質候補品プロトタイプを作製し、各メーカー使用のキャリブレーター、コントロール及び検体も含めて各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。

4）測定値収束性の効果判定方法は各社の測定プロトコルに従い患者尿 25 例を測定した。その際、実試料標準物質候補品プロトタイプも検体として測定した。
解析方法は各キット間の収束性を CV により検証した。実試料標準物質候補品による測定値収束性の効果は標準候補品三濃度から求めた補正係数を各社キャリブレーターにて測定した測定値に乗じ確認した。

5）その結果、尿中アミラーゼ以外は標準候補品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。

6）今後の課題として尿中尿素窒素、尿中アミラーゼ以外は値付けの手順、認証値と不確かさ、貯法及び安定性の確認等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。
尿中尿素窒素については電極法を原理とする試薬では標準物質中に電解質が含まれていないと測定できない問題があり、標準物質のマトリックスの検討を再度行い、値付けの手順、認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。
尿中アミラーゼについては各標準品中のアイソザイムの存在比率と各試薬のアイソザイムに対する反応性を確認し、標準物質候補品の濃度設定及びマトリックスの検討を行い、値付けの手順、認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。

(21) 血清無機リン

1）血清無機リンについて、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための各項目の実試料系標準物質について検討した。

2）測定試薬を販売しているメーカーを中心にワーキンググループを設け、実試料系標準物質の性状規格、濃度設定を検討した。

3） 事前検討において決定した血清無機リンの実試料標準物質候補品プロトタイプを作製し、各メーカー使用のキャリブレーター、コントロール及び検体も含めて各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。

4）測定値収束性の効果判定方法は各社の測定プロトコルに従い患者血清 25 例を測定した。その際、実試料標準物質候補品プロトタイプも検体として測定した。
解析方法は各キット間の収束性を CV により検証した。実試料標準物質候補品による測定値収束性の効果は標準候補品三濃度から求めた補正係数を各社キャリブレーターにて測定した測定値に乗じ確認した。

5）その結果、標準候補品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。

6）今後の課題として値付けの手順、認証値と不確かさ、貯法及び安定性の確認等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。

(22) 血清リチウム(Li)

1）実試料標準物質候補品のプロトコルの作成を目的とする研究を実施した。

2）平成 17 年度まとめ：血清リチウムについては、国内各種サーベイランスの対象になっていないことから、具体的な互換性について認識がない。実試料標準物質候補品(4 水準)を用い、

検証実験を行い、有用性を確認した。

3）昨年度結果より、実試料標準物質候補品の濃度を再考の上、3 水準とし、目標最高濃度を下げて、互換性、収束性への有用性を確認した。

4）試薬・機器メーカーでは採用していない原子吸光法が検査センターで使用されており、実試料標準物質候補品の本方法への適用の可能性を検討した。

5）実試料標準物質候補品による補正で、WG 参加メーカー・測定依頼検査センターデータの収束が認められ、有用性が確認された。測定方法として電極法、色素法、原子吸光法等、日常的に用いられる方法全般で有用性を認めた。

6）実試料標準物質候補品の一応の確立ができたと考えられた。

(23) 血清総ビリルビン

1）実試料標準物質候補品のプロトコルの作成を目的とする研究を実施した。

2）平成 17 年度まとめ:血清ビリルビンについては、測定方法により収束効果に差が存在した。酸化法（酵素、化学）では、各社キャリブレーターで収束しており、実試料標準物質候補品を用いても更なる収束は認めなかった。ジアゾ法では収束効果を認め、実試料標準物質作成の有用性を認めた。

3）本年度は、ジアゾ法をさらに収束させること、加えて全測定法を収束させることを目的とし、また調製上の問題・安定性の観点からも、水溶性ベースの実試料標準物質候補品 2 種を追加し、血清ベースと合せ 3 種組成の標準物質候補品を調製、これらにより収束性を検討した。

4）各社試薬間の収束性を CV%により検証した結果、全測定法において、各社キャリブレーターによる測定値より収束が悪かった。すなわち 3 種標準物質候補品による補正は収束効果を示さなかった。酸化法に関しては、標準物質候補品の種類、補正方法により若干の差は認められるが、補正を行うことで収束の傾向を認めた。課題であったジアゾ法に関しては、標準物質候補品全ての種類･補正方法で、各社キャリブレーターによる測定値より収束させることはできなかった。

5）実試料標準物質候補品のベース種類に関しては、水溶性ベース候補品 2 種は、血清ベース候補品に比べ良好な収束効果を示すことはなかった。

6）データの収束に関しては、昨年とは異なる傾向を得、単独候補品による総ビリルビン測定法全体、ジアゾ法の収束は困難であると推察できる結果となった。

3．今後の課題

実試料標準物質の研究開発についての今後の課題は以下のごとくである。

（1）国際標準化への対応

1）実試料標準物質について、値付けの方法、認証書および取扱説明書が作成し、かつこれらの文書の英文化を行い、国際標準化のために JCTLM ノミネーションの準備ができる測定項目は総カルシウムおよび総マグネシウムであり、次回の Cycle の JCTLM ノミネーションを準備する。

2）平成 19 年度の研究開発で実試料標準物質の設定をする測定項目のグリコアルブミン、血清

鉄、尿素窒素、アルブミンについては、JCTLM へのノミネーションを予定する。

（2）実試料標準物質の試作

平成 19 年度の研究開発で実試料標準物質の試作を予定する測定項目は、グリコアルブミン、血清鉄、尿素窒素、インスリン、C-ペプチド、コルチゾール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、アルブミン、膵型アミラーゼ、血清 C 反応性蛋白、尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清リチウム(Li)、血清無機リンである。

２－２－２　実施態勢

１．はじめに

臨床検査なかでも臨床化学分析を主とする生体試料分析の標準化作業のポイントは、標準物質の設定である。すなわち検査データの互換性の確保は、標準物質を用いてトレーサビリティをとることで得られる。この考え方は今では国際的なコンセンサスが得られている。近年、このような標準化の作業が国際的に進み、ISO/TC212 における作業から、標準物質やキャリブレーターおよび管理物質などについての国際規格が発効された。これにより体外診断用医薬品・医療機器として用いる測定試薬の測定値は、トレーサビリティを取り、結果として互換性も得られることが保証される。そのための日常検査で用いる常用の標準物質の設定が最重要となる。

臨床検査における測定体系すなわちトレーサビリティ連鎖(traceability chain)は、計量学的な考え方を参考にして ISO 17511（体外診断用医薬品―生物試料の定量測定―校正物質と管理物質の表示値の計量学的トレーサビリティ）[1)] および ISO 18153（体外診断用医薬品―生物試料の定量測定―校正物質と管理物質の酵素活性表示値の計量学的トレーサビリティ）で、明らかにされている。

その基本は、専門家の組織が作製した一次基準測定操作法(primary reference measurement procedure)やそれによって値付けられた一次校正物質（primary calibrator）は、その表示値を製造業者の校正物質に伝達し、最終的には臨床検査室の日常測定操作法に伝達される。この場合、最終使用者による測定値は、製造業者の測定操作法とは逆な方向を経て、標準物質が本来定めた表示値に戻ることが可能となる。これにより日本はおろか国際的にも測定値の整合性が確保できるわけである。

校正の階層段階全体と SI 単位への計量学的トレーサビリティ連鎖について示した。しかし、膨大な項目に及ぶ生体試料を取り扱う臨床検査医学の領域では、対象項目の性質が十分に解明され、SI 単位として表示できるものから、測定項目自体の性質が解明されず、定量的な測定が極めて困難な項目と多岐にわたって存在している。そのためトレーサビリティの確立には上位の基準測定操作法と、それによって値付けられた校正物質の存在が不可欠であり、それらの種類によって代表的な６種の階層段階が提示されている。

なかでも生物活性を測定する系では、基準測定操作法の設定は困難であることから SI 単位に直結しない。しかし、医療としては必須であることから、このような測定系については、非 SI 単位系として組み立てることで、最上位の多くは WHO 標準品などにトレーサブルとすることで合意されている。

さらに基準測定法および一次校正物質も存在しない場合の測定系は、企業が独自の判断で測定操作法を確立し、それによって最終的には製品校正物質に値付けをする。腫瘍マーカーや抗体測定など多くの項目（約 300 種類）がこの段階に属している。

そこで基準測定操作法や一次校正物質などを順次決めていくやり方は困難かあるいはそれには膨大な時間がかかるので、下からの標準化すなわちメーカーの日常測定操作法のキャリブレーターの値付けに使われているメーカーの基準（製造業者社内標準測定操作法や製造業者実用校正物質：manufacturer’s working calibrator）から、共通に使うことができるものを選択する方法も検討対象にすることが必要となる。

近年、ライフサイエンス分野における研究の進展等を背景として、遺伝子操作やタンパク質の分析等、バイオテクノロジー技術の具体的利用に当たって、医療や食料といった分野を中心に、計量標準（標準物質）の整備の必要性が国際的に注目されているCIPM（国際度量衡委員会）においても、2001 年にCCQM（物質量諮問委員会）にバイオアナリシスWG が設置されてDNAの定量のパイロットスタディが開始され、順次、他の項目についてもパイロットスタディの拡張が予定されており、また実行されている。

2002 年6 月にCIPM（ International-Committee of Weights and Measures：国際度量衡委員会物質量諮問委員会）とIFCC、ILAC及びWHOが共同でJCTLM（Joint Committee on Traceability in Laboratory Medicine）を発足させ、臨床検査薬（体外診断薬）・検査機器のためのトレーサビリティの確立に向けた高純度標準物質と実用標準物質に値付けを行う機関のデータベース化を進めている。JCTLM は、①医療計量トレーサビリティの確立、②国立標準研究所と臨床医療研究所との連携強化、③医療計量トレーサビリティ概念の啓発、④認証標準物質・計測方法などの開発、⑤標準測定システムを開発するIVD（体外診断検査）企業の育成、を目的としている。臨床検査の分野において、これは、①国際的な「トレーサビリティを確立」し、②臨床検査結果の「信頼性と互換性を確保」する、という２大目的にまとめられることから、実際上、２つのWG（ワーキング・グループ）によって組織が構成されることとなった。そのうちのWG１（Quality management in the Clinical laboratory）では標準物質と基準測定操作法の検討を、WG２（Reference system）では実用標準物質に値付けを行う機関の認定についての検討と、そのネットワーク化についての検討を行っており、ライフサイエンス分野全般における計量標準の開発・整備に向けた国際的な動きが活性化しはじめている。よって、我が国の企業が供給している臨床検査薬・検査機器の信頼性の保証、人の健康管理や病気の診断にとって重要な検査項目に必要となる計量標準についても、開発・整備することが急がれている。

特定非営利活動法人日本臨床検査標準協議会（Japanese Committee for Clinical Laboratory Standards：JCCLS）は、我が国における臨床検査の向上、発展をめざし、臨床検査の標準設定のための協議、検討並びに提案を行うために、厚生労働省、経済産業省、（社）日本臨床検査薬協会等の学協会、その他関連学協会、国立研究機関などを構成員として、設立された（注）。JCCLSの標準物質製造・頒布に対する基本的な理念と方針は、①臨床検査データの各施設間での互換性を確保し、②共通の臨床判断ができるような標準化作業を推進し、かつ③関連学協会からの標準化に関する情報を集約し、④早急に必要な標準物質の設定作業を行うこと、とされており、また中・長期的な将来戦略としては、①標準化基本検討委員会を設け、②臨床に必須な測定項目を選択し、③標準物質の設定作業を加速させ、④臨床検査データベース化の布石とする、という内容を掲げている。そのため、上記計量標準についても 2005 年 11 月より WG を発足させ、その活動を開始し、現在２年目が終了した。

２．実施態勢

実試料系標準物質の研究開発にあたっては、表１のごとくの実施態勢をとった。すなわち学協会の専門委員会での作業と連携して行う方法と、標準化基本検討委員会の中に検討のためのワーキンググループ(WG)によった。このうち血液ガス、イオン化カルシム、総カルシウムおよび総マ

グネシウムは、日本臨床化学会（JSCC）の POCT 専門委員会（旧血液ガス・電解質専門委員会)、実用および血清アルブミン、尿アルブミン、膵型アミラーゼ、血清 C-反応性蛋白(CRP)およびリパーゼは、同会の酵素・試薬専門委員会ならびに当該プロジェクト、グリコアルブミン（GA）は同会の糖尿病関連指標専門委員会グリコアルブミン（GA）プロジェクト、コリンエステラーゼ、ヘモグロビン A1c(HbA1c)、血清鉄および尿素窒素は、日本臨床検査協議会標準物質小委員会との連携によった。

標準化基本検討委員会内に WG を設置した測定項目は、インスリン、C-ペプチド、コルチゾール、HDL-コレステロール、LDL-コレステロール、実用および血清アルブミン、尿アルブミン、尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清無機リン、血清リチウム(Li)および血清総ビリルビンである。

実試料標準物質のプロトタイプの調整あるいは作製については、有限責任中間法人 HECTEF スタンダードレファレンスセンター、旭化成ファーマ㈱、シスメックス㈱およびオリエンタル酵母工業㈱の協力を得た。

表1 実施態勢

項目名	学協会		標準化基本検討委員会		実試料標準物質のプロトタイプの作製
	専門委員会	委員長	検討ワーキンググループ	委員長	
血液ガス	日本臨床化学会 POCT専門委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
コリンエステラーゼ	日本臨床検査標準協議会 標準物質小委員会	桑 克彦			旭化成ファーマ(株)
グリコアルブミン	日本臨床化学会 糖尿病関連指標専門委員会	武井 泉			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
イオン化カルシウム	日本臨床化学会 POCT専門委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
ヘモグロビンA1c(HbA1c)	日本臨床検査標準協議会 標準物質小委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
総カルシウム	日本臨床化学会 POCT専門委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
総マグネシウム	日本臨床化学会 POCT専門委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
血清鉄	日本臨床検査標準協議会 標準物質小委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
尿素窒素	日本臨床検査標準協議会 標準物質小委員会	桑 克彦			HECTEFスタンダードレファレンスセンター
インスリン、C-ペプチド、コルチゾール			J2WG(産業技術総合研究所、日本糖尿病学会、日本臨床検査薬協会)	千葉 光一/桑 克彦	HECTEFスタンダードレファレンスセンター
HDL-コレステロール LDL-コレステロール			J1WG (産業技術総合研究所、日本臨床化学会、日本臨床検査薬協会)	櫻林 郁乃介/濱崎 直孝	HECTEFスタンダードレファレンスセンター
実用および血清アルブミン 尿アルブミン	日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会	美崎 英生	J3WG (産業技術総合研究所、日本臨床化学会、日本臨床検査薬協会)		シスメックス(株)
膵型アミラーゼ	日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会 P-AMYプロジェクト	白井 秀明			旭化成ファーマ(株)
血清C反応性蛋白(CRP)	日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会 CRPプロジェクト	藤田 孝			オリエンタル酵母工業(株)
リパーゼ	日本臨床化学会 酵素・試薬専門委員会 リパーゼプロジェクト	飯塚 儀明			旭化成ファーマ(株)
尿中電解質成分 尿中生化学成分			J4WG (産業技術総合研究所、日本臨床化学会、日本臨床検査薬協会)	小林 隆/桑 克彦	HECTEFスタンダードレファレンスセンター
血清無機リン、血清リチウム(Li) 血清総ビリルビン			J5WG (産業技術総合研究所、日本臨床化学会、日本臨床検査薬協会)	小林 隆/桑 克彦	HECTEFスタンダードレファレンスセンター

２－２－３　各　論

２－２－３－１　血液ガス

本血液ガス測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会（現 POCT 専門委員会）による性能規格および測定手順のプロトコルにしたがって HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法でのコミュータビリティの試験は、金沢医科大学病態診断医学教室の福永壽晴委員らの協力により行った。

要旨

１）血液ガス測定用の標準物質のプロトタイプについて、日常検査法でのコミュータビリティ試験を行った。

２）本標準物質のプロトタイプは、実試料標準物質系であるため、目的とする検体とマトリックスと反応性が同等でなければならない。このコミュータビリティの評価には、NCCLS のガイドラインにより実施し、さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。

３）その結果、代表的測定機３種間の回帰式において、*p*CO2, *p*O2, pH のいずれにおいても、標準物質プロトタイプと実試料の回帰式は同一で、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていた。

４）本血液ガス測定用の標準物質のプロトタイプには、コミュータビリティがあることが確認できた。

１．序文

血液ガス（pH，pCO_2，pO_2）の測定は、救命救急検査として臨床上の重要な分野である。これらの測定に電極法による血液ガス測定装置が用いられるようになって以来、測定の簡便性，迅速性が急速に進歩した。

血液ガス測定装置では全血を希釈することなく pH，pCO_2，pO_2 の各電極膜に直接接触させて測定するために、全血成分によるマトリックス効果や電極膜の汚染劣化による経時変動等から生じる測定値の誤差の問題が避けられない。この誤差を検証する際に必要となる精確さの基盤は、化学分析の合理性に基づいて国際臨床化学連合（IFCC）が規定した「血液 pH 測定用の実用基準法」と「血液 pCO_2，pO_2 測定用標準トノメトリーの実用基準法」である。しかし、これらの実用基準法を各施設で実施するには、専用の装置と技術、加えて多大な時間を要することから、精確さを伝達できる機能を備えた簡便に使用できる実試料標準物質が望まれていた。

通常用いられている精度管理用のコントロールは水溶性の緩衝溶液などであることから、全血が電極に与えるようなマトリックス効果は再現出来ず精確さを検証するための標準物質として使用することは出来ない。また、全血の安定性は氷冷条件で２時間が限界（凍結すると溶血するために冷凍保存ができない）で保存安定性に欠けるため、各施設で共通して使用できる実試料標準物質として実用化することは困難である。そこで、血液と同様なマトリックス効果を持ち、電極

に対する挙動および性状は､平均的な全血に一致または近似する動物由来の Hb 溶液を材料とし、安定性を有するものを血液ガス測定用常用標準物質の材料とし、その表示値は IFCC の実用基準法に基づくものとした。表示値のトレーサビリティについては、pHは NIST　SRM186 酸塩を一次標準物質とし、IFCC の血液 pH測定実用基準法で測定し、pCO_2 及び pO は JCSS の基準標準ガスを一次標準物質とし、血液 pCO_2, pO_2 測定用標準トノメトリーを実用基準法とする体系による。

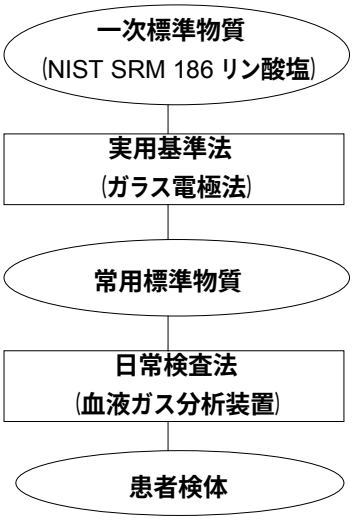


図１　血液 pH の測定体系

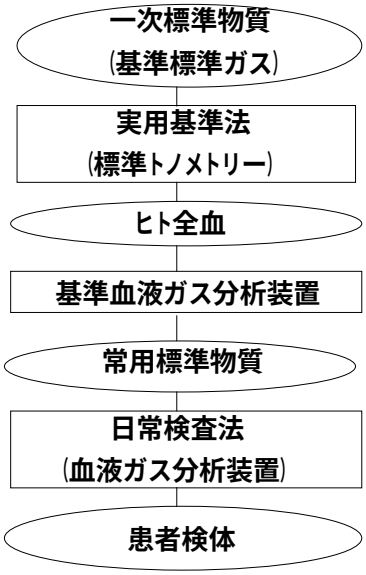


図２　血液 pCO_2 及び pO_2 の測定体系

２．用語の意味

本文書で用いる主な用語の意味は、日本臨床化学会標準品情報専門委員会による「標準に関する用語 Ver.2.4, 1996-02-15」[1)] によるほか、次の通りとする。

（１）pH

pH は水素イオンの相対モル活量 a_{m,H^+}の逆常用対数で定義される。

$$pH = -\log(a_{m,H^+})$$

単位：無次元

（２）pCO_2

pCO_2 は気液平衡状態での液相中及び気相中(液相中あるいは気相中)の二酸化炭素ガス分圧である。

単位：kPa　　（1kPa = 7.5 mmHg）

（３）pO_2

pO_2 は気液平衡状態での液相中及び／又は気相中の酸素ガス分圧である。

単位：kPa　　（1kPa = 7.5 mmHg）

（４）基準標準ガス

血液ガス測定に用いる基準標準ガスは、成分ガス（二酸化炭素または酸素）および希釈ガス（窒素）の高純度ガス二次標準（純度 99.95%以上）を用いた。本ガスは、計量法で定めた標準ガスの

指定校正機関あるいは認定事業者が質量比法により調整し、組成および濃度を確保した混合ガスである。

（5） トノメトリー

トノメトリーは、液体試料を温度、気圧が一定の条件下で既知組成のガスを用いて気液平衡させることにより既知ガス分圧の液体試料を得る操作である。トノメーターはトノメトリーするための装置である。

（6） 標準トノメトリー

標準トノメトリーは、血液試料を温度 37℃に保ち、一定の大気圧下で既知組成の基準標準ガスを用いて気液平衡させることにより既知ガス分圧の血液試料を得る操作である。

（7） 血液ガス測定の実用基準法

IFCC で定めた実用基準法で、pH についてはレファレンスセルシステムを用いる pH ガラス電極法により測定し、pCO_2 及び pO_2 については標準トノメトリー法により実施する。

（8）二次実試料標準物質

標準トノメトリーしたヒト新鮮全血（酸素を消費して二酸化炭素を生成する白血球と血小板を除いたもの）が、血液ガス測定用の二次実試料標準物質となる。この標準トノメトリーした新鮮全血を、直ちに IFCC の実用基準法と血液ガス測定装置で同時に測定することにより精確さの評価ができる。しかし、実用基準法を整備して精確さを維持して実施することは必ずしも容易ではない。また、全血の安定性は氷冷条件で２時間が限界（凍結すると溶血するために冷凍保存ができない）で保存安定性に欠けるため、各施設で共通して使用できる実試料標準物質として実用化することは困難である。そこで本研究では、ヘモグロビン溶液を実試料標準物質とすることとする。

３．常用標準物質の規格

常用標準物質の電極応答性をヒト全血のそれと一致させるためにイオン強度、Base Excess(BE)、総 Hb 濃度等の性状は表１のごとくである。

表１ 血液ガス測定用常用標準物質の性状規格

項　　目	常用標準物質	平均的全血	測 定 方 法
イオン強度 (mmol／kg)	160±20	160	電解質濃度より算出
Base Excess (mmol／l)	0±4	0	ノモグラム法
総 Hb 濃度 (g／l)	140±20	150	ICSH 法

４．常用標準物質の作製方法

血液ガス測定用常用標準物質の作製操作手順を図３に示す。

生理食塩水で洗浄した新鮮なウシ又はウマ赤血球を約等容量の水で溶血処理し、血球膜をろ過又は遠心分離により除去する。次いで、塩化ナトリウム，炭酸水素ナトリウム、水を適量ずつ加え、イオン強度、重炭酸濃度、BE（Base Excess)、総HHb 濃度が表１の性状規格内となるように調製する。

次いで二酸化炭素、酸素、窒素を用いてこの Hb 溶液の pH，pCO_2，pO_2 を調節した後、非通気性の袋に密封して、20℃付近に設定した恒温水槽内に入れる。この状態でガス平衡に保たれた Hb 溶液を、酸素、二酸化炭素及び窒素から成る混合ガスでパージしながらガラスアンプルに一定量ずつ分注後直ちに溶封する。これを速やかに－70 ℃以下のフリーザーに移し凍結保管する。充填する前の Hb 溶液の pH, pCO_2, pO_2 及びガラスアンプルのパージに用いる混合ガス組成を変えて、ガス分圧レベルの異なった標準物質を作製する。

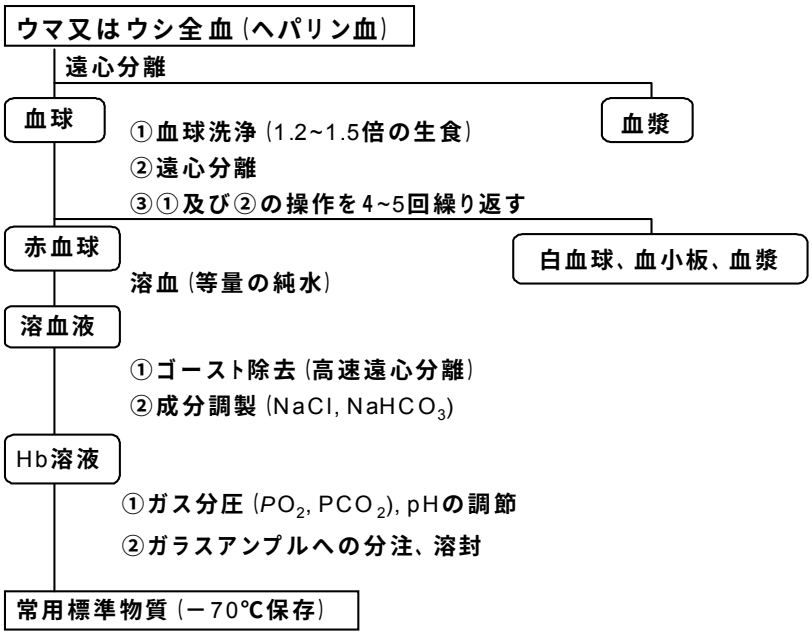


図３　常用標準物質の作製操作手順

５．認証値の測定方法

常用標準物質の認証値は、IFCC で定めた血液ガス測定の実用基準法を基にして値付けする。

（１）　pH の測定

測定には毛細管型 pH ガラス電極、毛細管型自由拡散型液絡、飽和 KCl 塩橋溶液、比較電極で構成される表２の規格を満たす血液 pH 測定用レファレンスセルシステムを用いる。システム全体は、図４のごとく 37±0.2 ℃の恒温水で充たされ、37 ℃下での正確な pH が測定できるように構成されている。

システムの校正は、以下の手順で調製した pH 標準液を用いて行う。

１）　pH 6.840 標準液

3.404 g の NIST SRM 186-I-f (KH_2PO_4)と 3.551 g の NIST SRM 186-II-f (Na_2HPO_4)を精秤して、二

酸化炭素を除去した電気伝導度 2 μS/cm 以下の水に溶解して全重量を 1000.0 g としたものを用いる。

２）　pH 7.392 標準液

1.184 g の NIST SRM 186-I-f (KH_2PO_4)と 4.322 g の NIST SRM 186-II-f (Na_2HPO_4)を精秤して、二酸化炭素を除去した電気伝導度 2 μS/cm 以下の水に溶解して全重量を 1000.0 g としたものを用いる。

図４のシステムをア），イ）の pH 標準液を用いて校正した後、次の手順で常用標準物質を測定する。まず、常用標準物質が入ったアンプルを 30±0.2 ℃の恒温水槽中に 10～30 分間浸す。次にアンプルを水槽中で十分に振り、アンプル内の Hb 溶液を完全に気液平衡状態にする。アンプルを開封し、直ちに試料をシステムのガラス電極部に導入して pH を測定する。日内及び日間の繰り返し測定を行い認証値を決定する。

表２　pH レファレンスセルシステムの性能規格

pH 電極	毛細管型ガラス電極（直径 0.3～0.6 mm）又はバルブ型ガラス電極
液絡部	毛細管自由拡散型（直径 0.4 mm 以下）の液／液ジャンクションタイプ
塩橋溶液	飽和 KCl
分解能	0.001 pH 以上
応答時間	15 秒以内（95 %応答）
直線性	pH あたりの起電力の理論値からのずれが 2%以内
ドリフト	0.001 pH／hr 以下
繰り返し精度	SD=0.002 pH 以下（n=5）
ナトリウム誤差	0.003 pH 以下

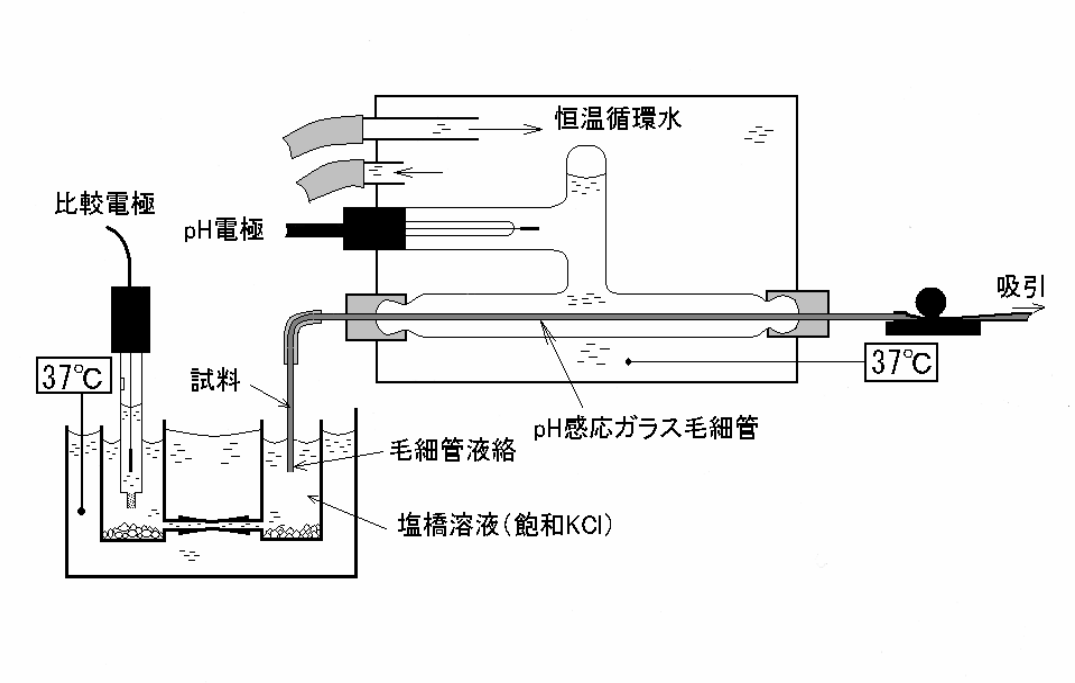


図４　血液 pH 測定用レファレンスセルシステムの構成

（２）pCO_2 及び pO_2 の測定

測定には表３の規格を満たす標準トノメトリーシステムと表３の仕様を有する基準血液ガス分析装置を用いる。標準トノメトリーシステムの一例を図５に示した。基準血液ガス分析装置には、同一の基準標準ガスで標準トノメトリーした新鮮ヒト全血と常用標準物質の材料である Hb 溶液を測定したとき、各々の測定値の差は 1%以下である装置を選定する（表４）。

まず、３レベル以上の基準標準ガスを用いて標準トノメトリーし、それを測定して血液ガス測定装置を校正した。この常用標準物質の pCO_2 及び pO_2 は次式によって求める。

$pCO_2 = (P_B - P_{H_2O}) \cdot X_{CO_2}$

$pO_2 = (P_B - P_{H_2O}) \cdot X_{O_2}$

P_B：測定時の大気圧

P_{H_2O}：37℃における飽和水蒸気圧 6.28 kPa（47.1 mmHg）

X_{CO_2}，X_{O_2}：基準標準ガス中の CO_2，O_2 各々の重量モル分率

次に pH の測定の場合と同様にして 30±0.2 ℃の恒温水槽中で完全に気液平衡状態にした常用標準物質を測定した。日内及び日間の繰り返し測定により認証値を決定する。

表３　標準トノメトリーシステムの規格

トノメーター	薄膜式トノメーター（IL 232 型：IL 社製を推奨）
試料量	2 ml 以下
平衡化時間	20 分以内（全血試料）
加湿器	全血を 20 分間トノメトリーした時の Hb 濃度の変化が 1%以下
基準標準ガス	含量の拡張不確かさが 0.4%以下
ガス流量	300～500 ml/min

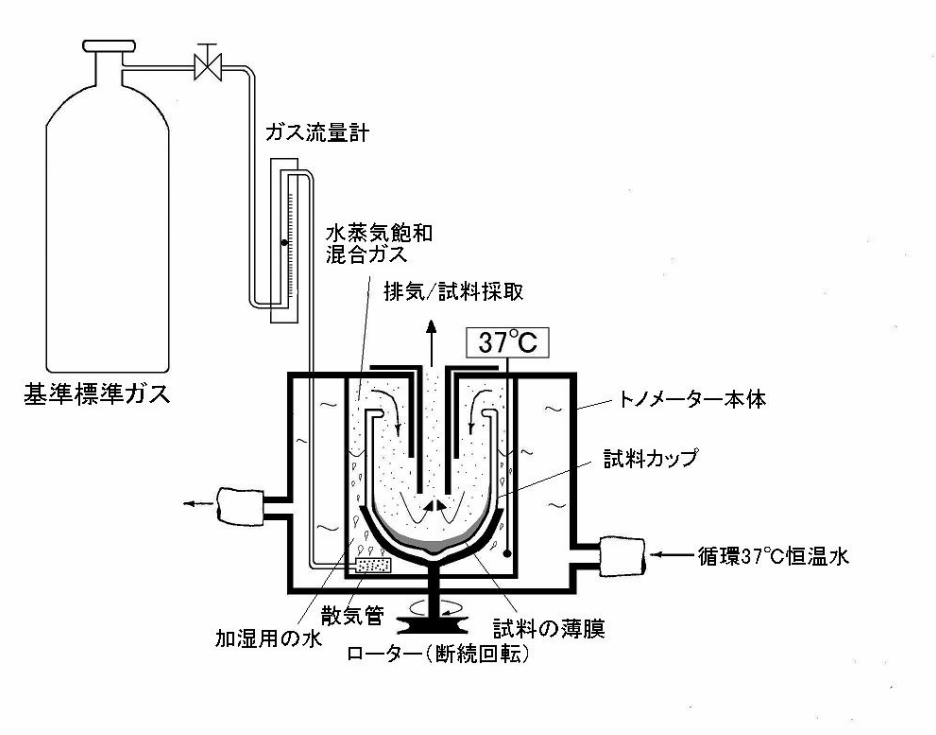


図５ 標準トノメトリーシステムの構成

表 4 常用標準物質の値付けに使用する基準血液ガス分析装置の仕様

分 解 能	0.01 kPa (0.1mmHg)
応答時間	60 秒以内（99%応答時間）
ドリフト	0.04 kPa (0.3 mmHg)／hr 以下
繰り返し精度	標準偏差(SD)=0.04 kPa (0.3 mmHg)以下 ,n=5
一 致 性	同一条件で標準トノメトリーしたヒト全血とヘモグロビン溶液の各々の測定値の差は 1 %以内
試 料 量	500 μl以下
測定電極部温度	37.0±0.2 ℃

６．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

■表示値及び不確かさ

ガス平衡温度（30℃）

Lot No.	ラベル	pO_2(mmHg)	pCO_2(mmHg)	pH
B03-1	(青)	44.4±2.5	66.0±3.0	7.275±0.030
B03-2	(緑)	85.6±3.0	47.5±2.5	7.376±0.030
B03-3	(赤)	142.4±4.0	28.8±2.0	7.534±0.030

表示値はいずれも測定温度 37 ℃の値である。

不確かさは、標準トノメトリーの標準不確かさと、国内で上市されている７桟種の血液ガス測定装置の測定値の標準不確かさを合成し、それに 2 をかけて拡張不確かさを求め、それを上記不確かさとした。

７．性状の評価

（１）均一性及び安定性

１） 均一性

同一ロットとして作製した常用標準物質（N=1,000 本）を充填順に３区分に分け、各々の区分から５本を無作為に抜き取り、合計 15 本のアンプルを基準測定装置で測定して均一性を評価した。その結果、アンプル間差は相対標準偏差として pH で 0.005 以内、pCO_2 及び pO_2 で 1%以内であることが確認され均一性に問題はなかった。

２） 保存安定性

保存安定性を pH で 0.01 以上、pCO_2 及び pO_2 で 2%以上の変化が生じない保存期間で表すと、凍結保存温度が－70 ℃以下では３年間変化がみられなかったが、－40 ℃以上の凍結状態では約１ ヶ月であった。従って、常用標準物質を長期間保管するには－70 ℃以下で凍結しなければならない。

また輸送、保管等の都合で冷蔵状態にしておく場合の保存安定性は、５日間である（図６）。冷蔵での保存期間は、原料の耐酸化性に依存しメトヘモグロビンの生成が速いものは保存期間が短い傾向がみられた。常用標準物質の保管に際しては、ロット毎に表示されている有効期限を十分に確認して取り扱うことが重要である。

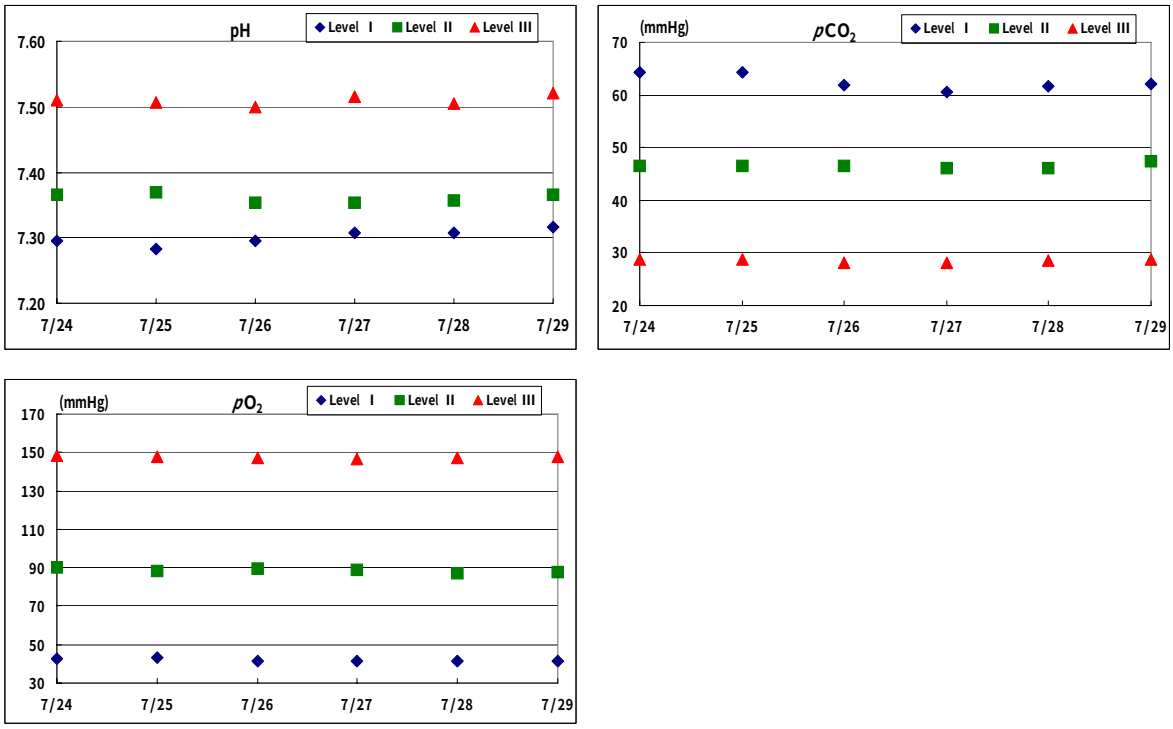


図６　試料の安定性（冷蔵保存）

（２）酸素解離特性

常用標準物質に用いるＨｂ溶液の酸素解離曲線（ただし、縦軸は酸素含量(ml/l)を示す）は、図７に示すように市販の精度管理物質に用いられている材料に較べて良く全血に一致しており、酸素電極に対する応答性についても全血との一致性が得られ易い。

注）さらに酸素親和性を全血と類似させるためのアロステリックエフェクターとしてイノシトール六リン酸を添加することも可能である。しかし市販多項目複合機の一部の機種において、この物質がグルコース電極に悪影響を及ぼすことが確認されたので、その後は添加しない。

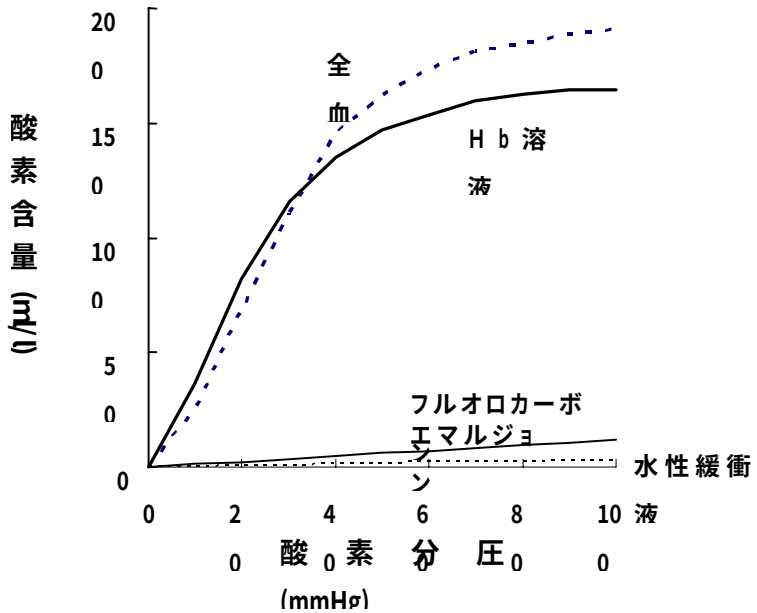


図７　常用標準物質の 0_2 解離曲線の比較

（３）全血との一致性

Hb 溶液とヒト全血との一致性を調べるために、同一の混合ガスを用いてそれぞれを標準トノメトリーして市販の測定装置（３社の７機種）で測定した。その結果を図８に示した。pCO_2，pO_2 共に全機種でほぼ良い一致性がみられ、Ｈｂ溶液がヒト全血の代用になることが判る。

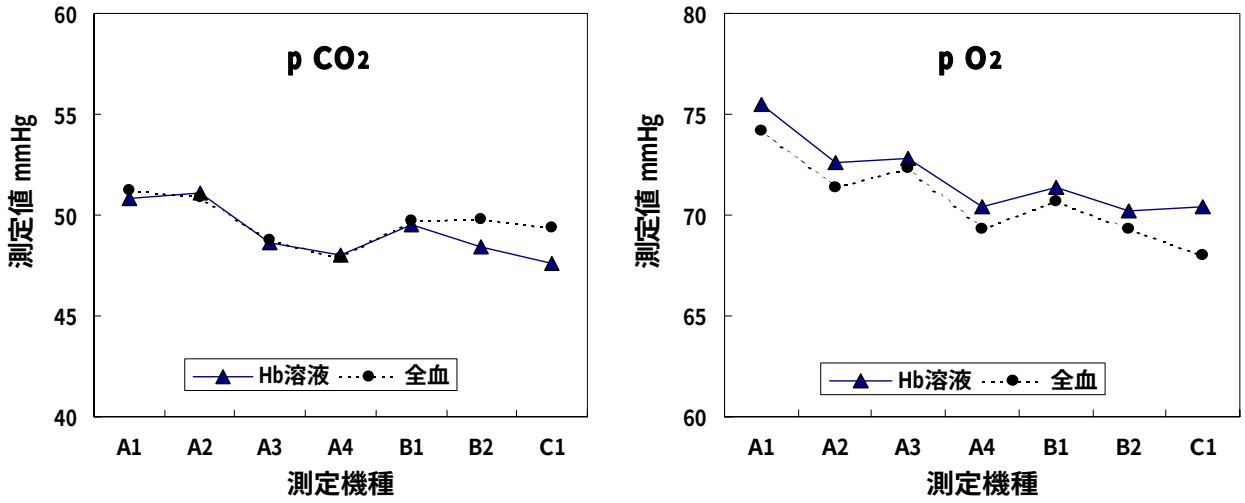


図８　Hb 溶液と全血試料との一致性

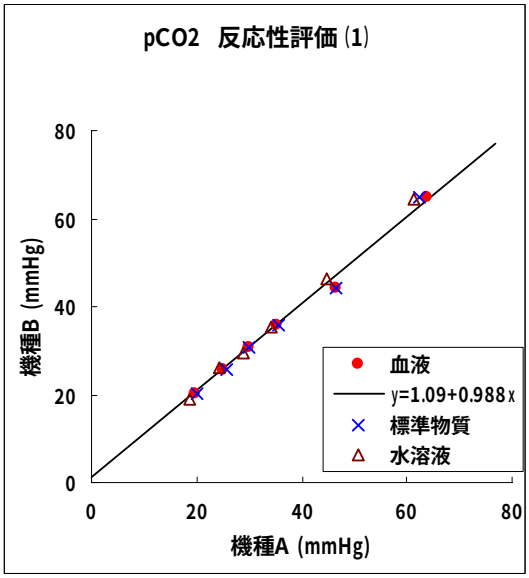
（4）コミュータビリティ

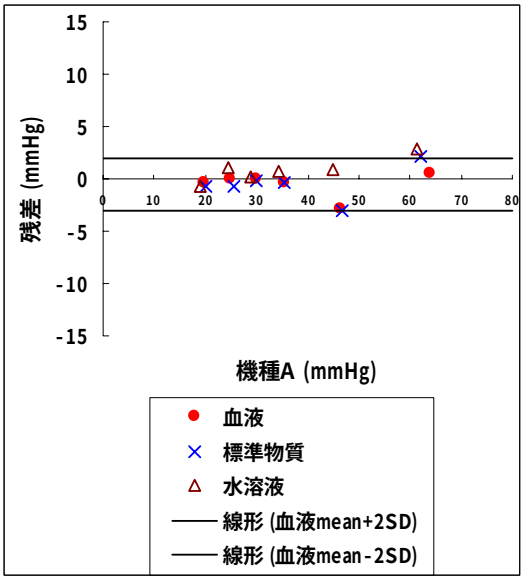
一般に実試料標準物質は、目的とする検体とマトリックスが同じでなければならないが、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血は非常に壊れやすいため、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用することがおこなわれる。この場合、そのマトリックスは検体と同じではない。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体を原料としたもの又はその割合が多い場合、そのマトリックスは通常の一般的な検体と同じとはいえない。

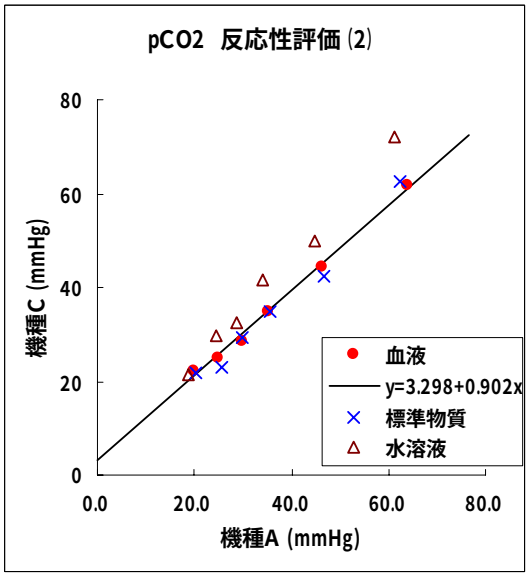
標準物質の表示値が、日常法によって検体の測定値に正しく移行されるためには、常用標準物質と通常の一般的検体とが日常法に対して同等である必要がある。同等であれば、その常用標準物質はコミュータビリティがあるといえる。

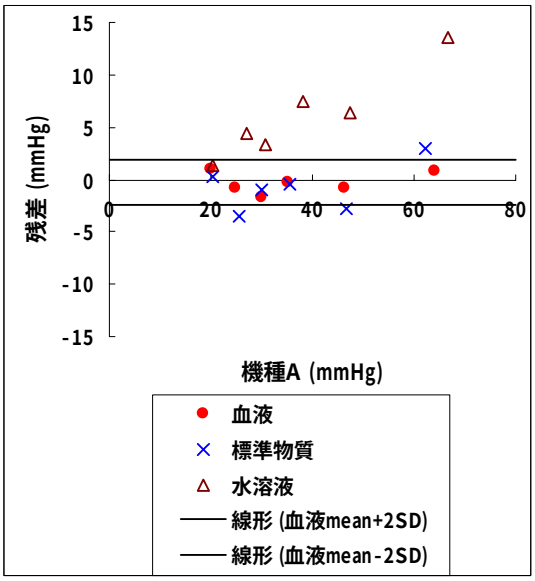
コミュータビリティの評価にはNCCLSのガイドラインを参考にすることとし、ガイドラインの基礎をなすPassing-Bablokの直線回帰式と残差プロットを用いてコミュータビリティを評価した（図９）。

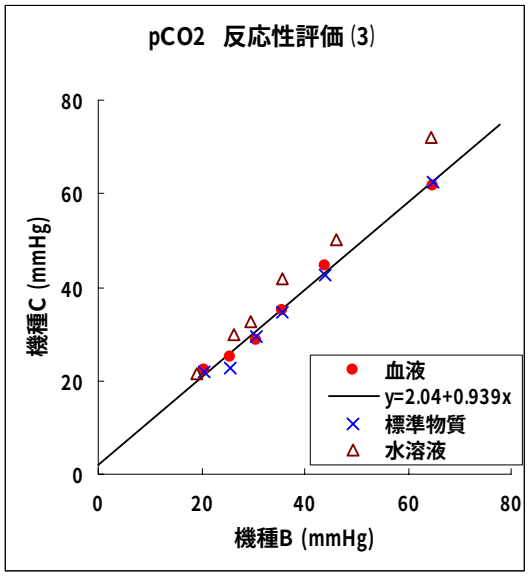
図から、代表的測定機３種間の回帰式において、*p*CO2, *p*O2, pHのいずれにおいても、標準物質と実試料の回帰式は同じで、かつ標準物質のばらつきは実試料のばらつきの95%信頼区間に入っていることから、本標準物質にはコミュータビリティがあるといえる。なお、図から明らかなように、市販の水溶液のコントロール物質にはコミュータビリティはない。

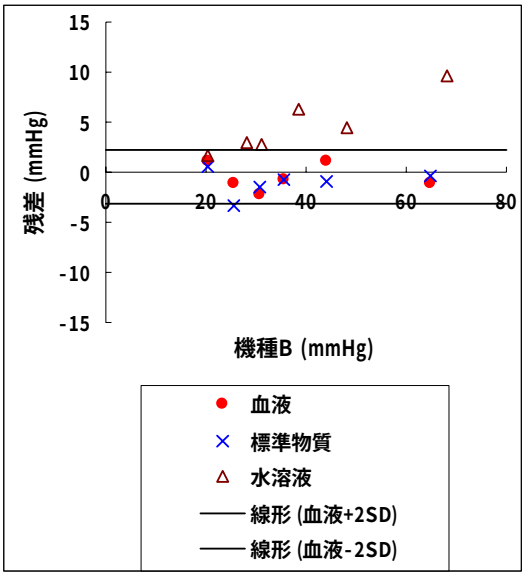

pCO2　反応性評価 (1)
機種B (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
y=1.09+0.988x
標準物質
水溶液

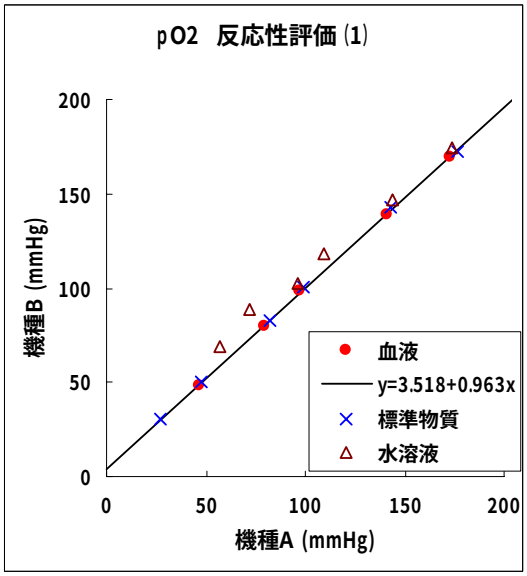

残差 (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液mean+2SD)
線形 (血液mean-2SD)

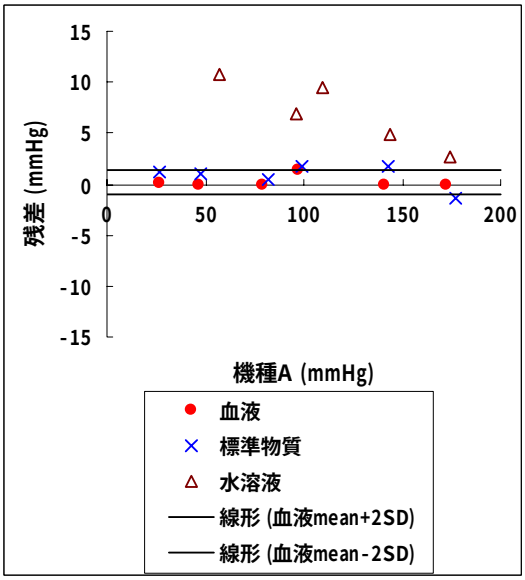

pCO2　反応性評価 (2)
機種C (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
y=3.298+0.902x
標準物質
水溶液

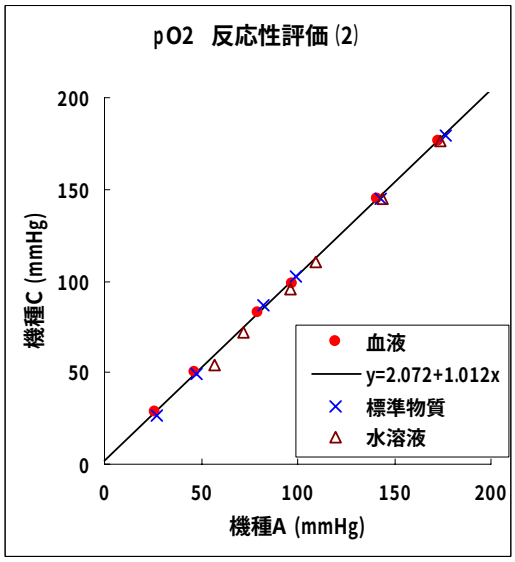

残差 (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液mean+2SD)
線形 (血液mean-2SD)

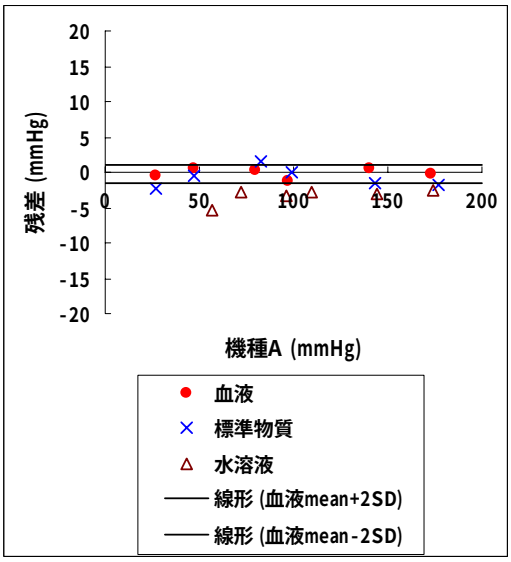

pCO2　反応性評価 (3)
機種C (mmHg)
機種B (mmHg)
血液
y=2.04+0.939x
標準物質
水溶液

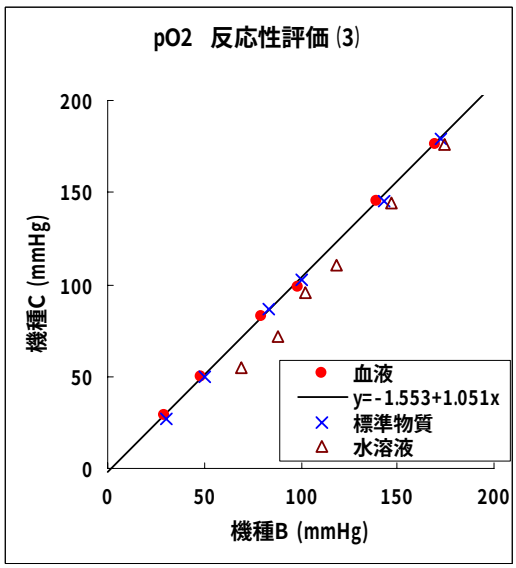

残差 (mmHg)
機種B (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液+2SD)
線形 (血液-2SD)

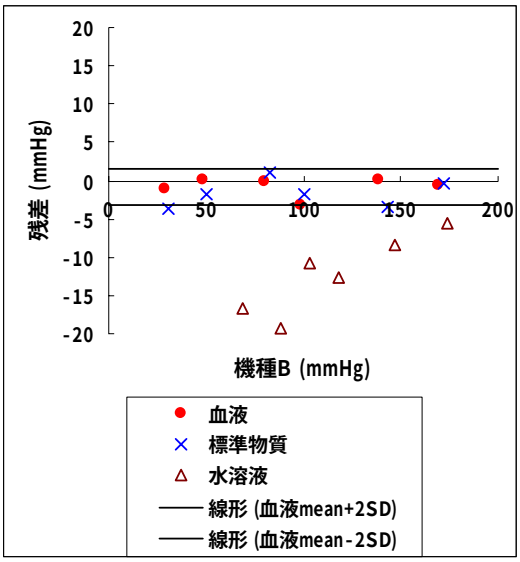

pO2　反応性評価 (1)
機種B (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
y=3.518+0.963x
標準物質
水溶液
0
50
100
150
200

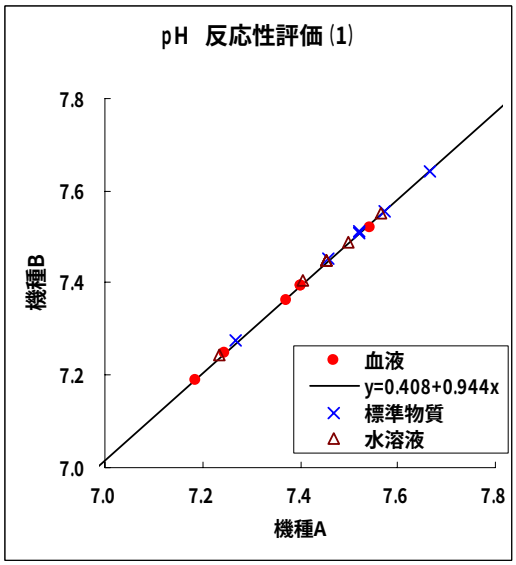

残差 (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液mean+2SD)
線形 (血液mean-2SD)
15
10
5
0
-5
-10
-15
0
50
100
150
200

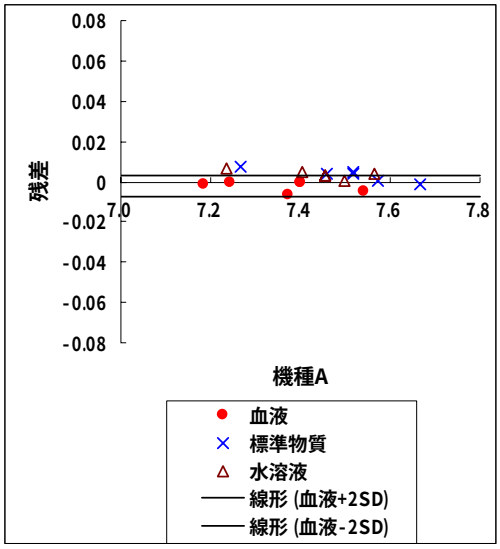

pO2　反応性評価 (2)
機種C (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
y=2.072+1.012x
標準物質
水溶液
0
50
100
150
200

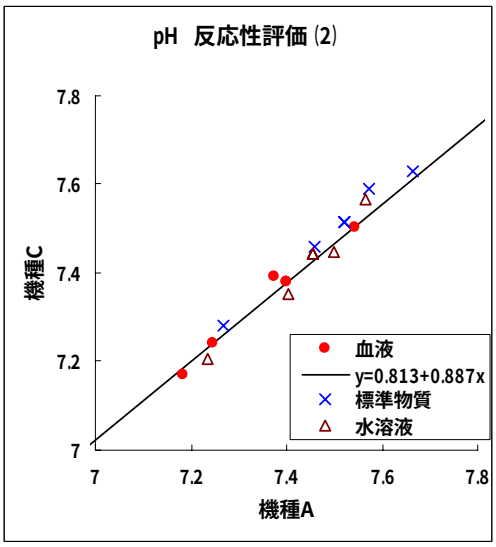

残差 (mmHg)
機種A (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液mean+2SD)
線形 (血液mean-2SD)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
0
50
100
150
200

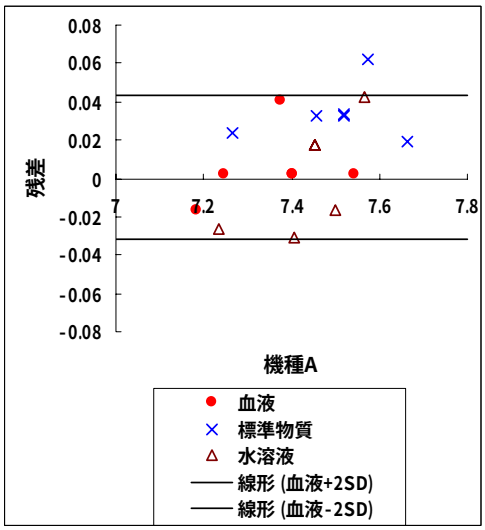

pO2　反応性評価 (3)
機種C (mmHg)
機種B (mmHg)
血液
y=-1.553+1.051x
標準物質
水溶液
0
50
100
150
200

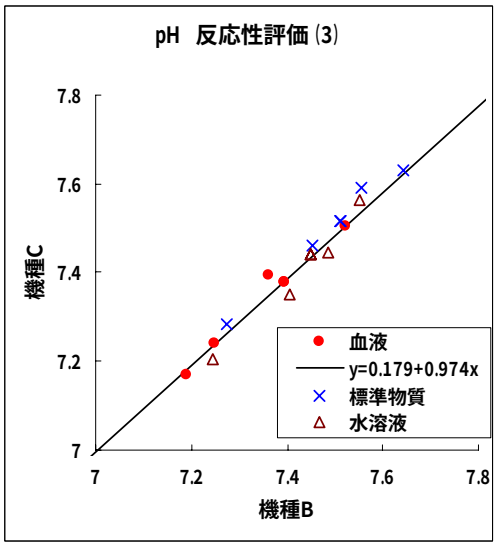

残差 (mmHg)
機種B (mmHg)
血液
標準物質
水溶液
線形 (血液mean+2SD)
線形 (血液mean-2SD)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
0
50
100
150
200











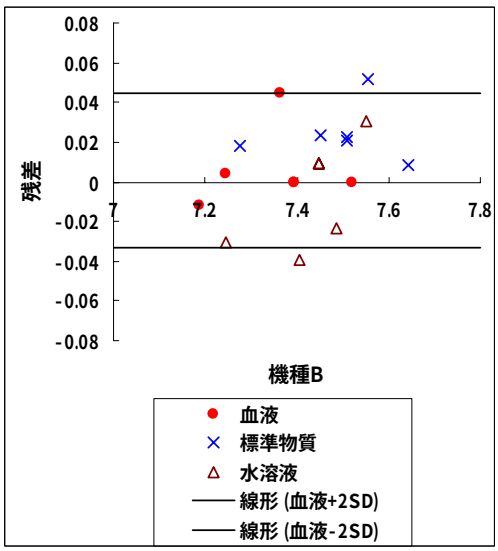


図９　本標準物質のコミュータビリティ評価試験結果

（５）常用標準物質を用いた血液ガス測定装置の精確さの

１）確認例１

石川･富山･福井の北陸　　血液ガス測定用常用標準物質を用いた EQA を毎年実施している。EQA に使用した試料は、血液ガス測定用常用標準物質と同様の手法で EQA 用に調整されたものであり、 １セットが３濃度（レベルⅠ～Ⅲ）からなり、1 施設につき ２ セットを配布した。試料の輸送は、各施設まではドライアイスによる冷凍状態(－40℃以下)で、施設到着後は 4～6℃の冷蔵状態で保存した。試料到着後 ３ 日以内に使用説明書の指示に従い測定した。

表５は 2003 年に実施した EQA の標準物質の表示値と参加 137 台の測定結果および表示値の範囲内に入った数を示した(ここで、表示値の範囲は測定結果の収束の度合いをみるため便宜的に用いた)。表からも判るように pHに関しては、各レベルとも約 90%以上が表示値の範囲内に入っており、EQA 参加機種の殆どが pHを精確に測定していることが判った。

*p*CO2 については、表示値の範囲に入った割合がレベルⅠ,Ⅱで 80%以上と高かったが、レベルⅢでは、71.5%であった。また、 *p*O2 についてはレベルⅠ,Ⅱで約 50%と低かったが、レベルⅢでは 75.9%と若干高かった。

ことからこの血液ガス測定用常用標準物質は、ヒト全血と類似の性状であるので、実試料でも同様の結果が着たいできること、血液ガス測定用常用標準物質による EQA は、血液ガスデータの標準化を実践する上で非常に有用性は高いと考えられる。

表５　試料の表示値・測定値

項目	レベル	表示値	測定結果	バイアス	表示値内に入った数
pH	Ⅰ	7.302±0.03	7.3078±0.01657	0.0058	123/137 (89.8%)
	Ⅱ	7.376±0.03	7.3702±0.01517	-0.0058	130/137 (94.9%)
	Ⅲ	7.534±0.03	7.5238±0.01606	-0.0102	123/137 (89.8%)
*p*CO2 (mmHg)	Ⅰ	63.0±2.5	63.17±2.47	-1.83	98/137 (71.5%)
	Ⅱ	47.5±2.0	47.20±1.31	-0.30	115/137 (83.9%)
	Ⅲ	29.0±1.5	28.96±1.13	-0.04	116/137 (84.7%)
*p*O2 (mmHg)	Ⅰ	41.0±2.5	41.03±2.06	0.03	104/137 (75.9%)
	Ⅱ	85.5±3.0	87.16±3.65	1.66	73/137 (53.3%)
	Ⅲ	142.5±4.0	142.69±6.294	0.19	66/137 (48.2%)

６）確認例２

ア）目的

北陸３県(石川・富山・福井)の検査技師会と共同で血液ガス測定用標準物質(HECTEF SR セ

ンター製)を用いた血液ガス測定装置の正確さの調査を実施した。

イ）標準物質の設定概要

（1）実験手順

平成 18 年 7 月 25 日に HECTEF SR センターより、石川県は金沢医科大学、富山県は上市総合病院、福井県は福井循環器病院にサーベイ試料を送付した。この 3 病院からサンプリング用の器具(300 μl キャピラリーチューブ×6,1ml プラスチックシリンジおよびゴム管)をサーベイ試料に添付し各県対象施設に配布した。

到着した試料は速やかに冷蔵保存(4℃～8℃)し、3 日以内に測定手順に従い実施した。

（2）測定方法

30±0.2℃の恒温槽に 20 分間インキュベーションした後、恒温槽内で 60 秒間アンプルを激しく振盪しアンプル内を気液平衡した後、20 秒以内に測定した。

（3）測定結果

ⅰ. サーベイの参加は 6 社、14 機種、133 台であった。

ⅱ. サーベイ期間中の試料の安定性は、5 日間の各項目の変動は殆ど無く安定であった。

ⅲ. 各レベルの表示値および測定結果を表 2 に示す。ここで、表示値内に入った数は測定値の収束の度合いを示しており、pH は 3 レベルとも 95%を超えており殆どの施設で正確に測定されていることが判った。*p*CO2 および *p*O2 もそれぞれ 85～96%,72.9～88.7%と高く、過去に実施したサーベイの中で最高の値を示し、何れも正確に測定されていることが示された。

ⅳ. セット A の結果よりセット B の結果を補正した(表 6)。補正後の収束率は何れも高くなっており標準物質による補正効果が有効なことが示された。

Ⅴ.回使用したサーベイ試料(Hb タイプ)の性状を表 3 に示す。Hb タイプは実資料型の標準物質であり、電極に対する挙動がヒト全血とよく一致している。図 10 は血液ガス測定用標準物質（Hb タイプ）とヒト全血および血液ガス精度管理用物質を標準ガスでトノメトリーしたときの pO_2 の結果を示す。標準物質はヒト全血とよく一致するが、精度管理物質は酸素含量が極端に少ないため測定回路内の空気による汚染のため pO_2 が低い値では高値を示す。

ウ)今後の課題

Hb タイプのサーベイ試料は従来型の血液ガス測定装置では電極に対する特性がヒト全血と類似しており有用性は高いが、最近増加傾向にある POCT 型の血液ガス測定装置では機種によっては使用出来無い。血球タイプは POCT 装置での測定も期待できるので、今後は血球タイプの検討が必要と思われる。

また、血液ガス測定装置は従来のデスクトップ型から POCT 型へ急速に移行しているが、POCT 装置は 1 検体毎に測定センサーを使い捨てにするタイプが多く、これらの装置における精度保証法の開発が急務となっている。

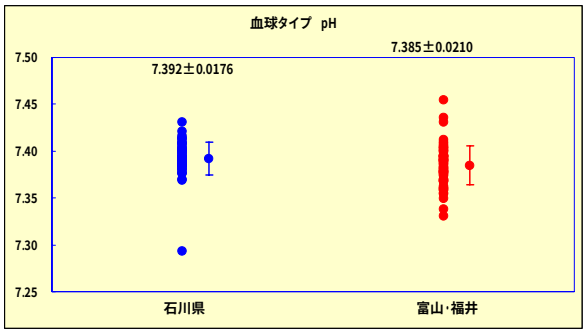
エ）結び

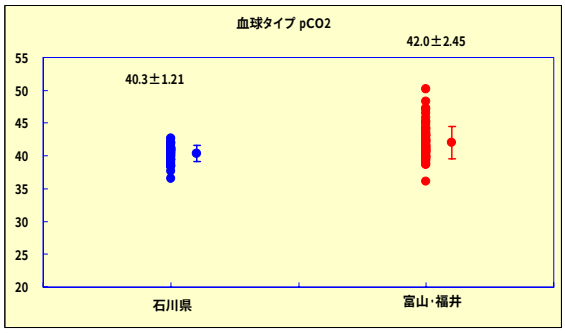
Hb タイプの結果は過去 10 年間のサーベイの中で今回が最も良い成績となった。これは Hb タイプ標準物質の年々の改良と北陸 3 県のサーベイ対象施設の測定技術の向上によるものと考えられる。

表６　補正効果

項目	表示値 (B05C1)	測　定　値　(Set B)			
		mean	sd	bias	表示値の範囲内に入った数（%）
pH	7.279±0.04	7.2696	0.0143	0.0094	127/131　(96.9%)
	7.399±0.04	7.3566	0.0135	0.0124	124/129　(93.0%)
	7.516±0.04	7.5026	0.0145	0.0134	124/130　(95.4%)
pCO_2	64.0±4.0	65.19	2.14	-1.19	111/131　(84.7%)
	44.0±3.0	44.50	1.29	-0.50	120/129　(93.0%)
	31.0±3.0	30.86	0.96	0.14	126/130　(96.9%)
pO_2	40.5±3.0	40.53	1.71	-0.03	114/131　(87.0%)
	59.0±5.0	61.11	2.96	-2.11	119/129　(92.2%)
	85.0±5.0	86.84	4.63	-1.84	94/130　(72.3%)

項目	表示値 (B05C1)	測　定　値　(Set B)補正後			
		mean	sd	bias	表示値の範囲内に入った数（%）
pH	7.279±0.04	7.2696	0.0143	0.0094	129/131　(98.5%)
	7.399±0.04	7.3566	0.0135	0.0124	127/129　(98.4%)
	7.516±0.04	7.5026	0.0145	0.0134	127/130　(97.7%)
pCO_2	64.0±4.0	65.19	2.14	-1.19	123/131　(93.9%)
	44.0±3.0	44.50	1.29	-0.50	125/129　(96.9%)
	31.0±3.0	30.86	0.96	0.14	126/130　(96.9%)
pO_2	40.5±3.0	40.53	1.71	-0.03	121/131　(92.4%)
	59.0±5.0	61.11	2.96	-2.11	127/129　(98.4%)
	85.0±5.0	86.84	4.63	-1.84	122/130　(93.8%)





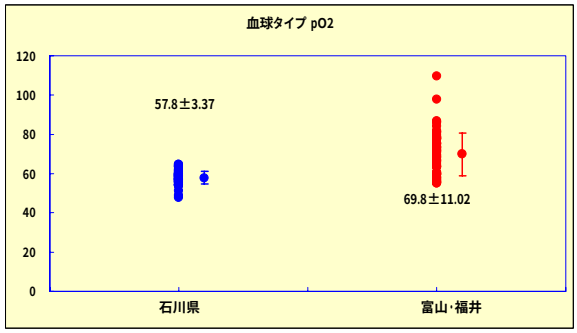


図 10　血球タイプの混和法による違い（石川県のみ転倒混和、富山･福井県は回転のみ）

７．結論

昨年度に引き続き、プロトタイプを用いて、日常検査法での測定値の精確さの評価試験を行った。標準物質の取り扱いを含めて試料のハンドリングについてマニュアル化したことにから、ユーザーサイドにおける使い方が一定となり、測定技術の評価が可能となった。

文献

１）日本臨床化学会標準品情報専門委員会：標準に関する用語(Ver. 2.4)(1996-02-15). 臨床化学 25:126-134, 1996

２）Approved IFCC methods. Reference method(1986) for pH measurement in blood. Clin Chim Acta 165:97-109, 1987

３）IFCC Method(1988) for tonometry of blood : Reference materials for P_{CO2} and $\underline{P}_{O2}$. J Clin Chem Clin Biochem 27:403-408, 1989

４）Mahony JJ, Wong RJ, Kessel ALV : Reduced bovine hemoglobin solution evaluated for use as a blood gas quality-control material. Clin Chem 39: 874-879, 1993

５）ISO TAG4:Guide to the expression of uncertainty in measurement(GUM), BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, OIML, 訂正版, 1995

６）福永壽晴：血液ガス測定装置の精確さの評価. 日本臨床検査自動化学会会誌 24：179-184、1999

７)福永壽晴:血液ガス測定装置の信頼性確保のための標準物質の使い方. 検査と技術 35:136-139、2007

８）日本臨床学会、血液ガス・電解質専門委員会：イオン電極法による血液中ナトリウム、カリウム、塩素濃度測定の勧告法―標準血清による正確さの校正方法―. 臨床化学 22：279-290,1993

9） NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guidelines. Document EP9-A(ISBN 1-56238-283-7) 1995 NCCLS, Wayne, PA.

10） Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20, 1984;22:431-45

２－２－３－２　コリンエステラーゼ

本血清コリンエステラーゼ測定用標準物質候補品の反応性評価試験については、JCCLS 認証委員会標準物質小委員会およびその協力施設により行った。

要旨

１）血清コリンエステラーゼ測定用標準物質のプロトタイプの作製にあたり、候補品の選定を行った。

２）候補品の選定には、反応性評価試験を行った。

３）反応性評価試験は、市販の試薬キットを用いて、精密さの試験と残差を用いた評価試験により行った。

４）候補品４種は、ヒト血清系が２標品、遺伝子組換え体が２標品であった。

５）候補品について、最終的に反応性評価試験で適となった標品は、ヒト血清系の２標品であった。

６）血清コリンエステラーゼ測定用標準物質のプロトタイプの作製には、反応性評価試験で適となったヒト血清系の２標品が適用可能となった。

１．序文

酵素活性測定に用いる日本・常用酵素標準物質（JC･ERM），検量用 ERM および精度保証用試料（QA 試料）は、ヒト血清と同一の酵素反応性を有することが必須である。これらの酵素反応性評価を行うための反応性評価法は、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）が設定した JCCLS 自動化法[1)] を用いることで多数の患者試料が測定でき可能となった。一方、そのデータ処理の方法は、斉藤ら[2)] が示した方法で一般化されている。

今回は、本コリンエステラーゼ測定用標準物質候品について、日常検査法での反応性評価試験は、JCCLS 認証委員会標準物質小委員会専門委員会およびその協力施設により行った。

２．実施手順

酵素反応性評価試験に用いる測定試料，測定試薬および酵素反応性評価試験法を以下に示した[2)]。

（１）測定試料

１）精密さの確認用試料は、基準範囲の下限値付近から基準範囲の上限値の約３倍までを測定域とし、ほぼ連続的になるように患者血清約 50 件を用いた。

２）相関分析用試料は、連続的になるように患者血清 200 件以上を用いた。

３）反応性評価用試料は、コリンエステラーゼ測定用標準物質候品（表１）を用いた。

表１　酵素標準物質候補品

CHE-ERM候補品(オリエンタル酵母)　Lot.No.ERM04501
CHE-ERM候補品（旭化成ファーマ）
CHE組換え体標品A（旭化成ファーマ）
CHE組換え体標品B（旭化成ファーマ）

（２）測定試薬

１）反応性評価法の試薬は、JCCLS－SOP に準じて調整した自製試薬[1)] を用いた。また、自動分析装置のパラメーターは JCCLS－SOP 法で指定された測定条件で実施した。なお、検量は反応指示物質を用いた実測Ｋファクターを用いた。

２）試薬キットは、自動分析法による血清コリンエステラーゼ活性測定用の市販キット 18 種を用いた。また、自動分析装置のパラメーターは試薬キットごとに指定された測定条件で実施した。なお、検量は反応指示物質を用いた実測Ｋファクターを用いた。

（３）酵素反応性評価試験

酵素反応性評価試験の実施手順は以下のごとくとした。

１）精密さの確認

精密さの確認は、患者血清 50 検体を用いたランダマイズ２回測定の測定値から、分散分析による標準偏差の期待値（σ ^ ）を求めた。

２）相関分析

相関分析は、日常検体の中から無作為に抽出した患者血清を用いた。ｘ軸に反応性評価法の測定値を、ｙ軸に市販キットの測定値をとり相関分析を行い、相関係数ｒ，回帰式ｙ＝ａ＋ｂｘおよび推定値の標準誤差Ｓy･x をそれぞれ求めた。

３）反応性評価用試料の測定

各試験試料を５重測定し、その平均値および標準偏差 SD を求める。次に測定試料の推定値，残差および相対残差を求めた。

推定値：回帰式の X に反応性評価法の測定値を代入して得た値

残差：市販キットの測定平均値－推定値

相対残差：(残差／推定値）×100（%）

４）有意差検定

反応性評価用試料の反応性の確認は、個々の Y の 95%信頼区間を用いた残差の有意差検定法により行った。有意差検定は、試験試料の測定値（X_0，Y）が２）項で求めた回帰式上の点（X_0，Y^）の予測区間に存在するか否かを確認した。

①統計処理：ｒは、前述の２）の相関分析で得られた相関係数ｒで小数点以下 10 桁まで求めたもの。

SD_x：反応性評価法の測定値の SD

SD_y：市販キットの測定値の SD

V_E　：級内誤差の不偏分散で〔１〕式で求める
Sxx：相関分析における反応性評価法の偏差平方和で〔２〕式で求める

$V_E = \{(SD_y)^2 (n-1)(1-r^2)\} / (n-2)$・・・〔１〕
$S_{xx} = (SD_x)^2 (n-1)$　・・・・・・・・・・・・・〔２〕

②試験試料の個々のＹの 95%信頼区間と有意差検定

X_0：反応性評価法による試験試料の測定値
Xbar：反応性評価法による相関分析時の全測定値の平均値
Ｙ　　：試薬キットによる試験試料の測定値
Ｙ^　：反応性評価用試料の推定値

予測区間は〔３〕式で求めた。
$\hat{y} \pm t(n-2;0.05) \cdot S_p(\hat{y})$　・・・・・・・・・〔３〕
ここで $t(n-2;0.05)$：1.96（ｎ＝120 以上）
$S_p(\hat{y})$：反応性評価用試料の推定値の予測標準偏差〔４〕式で求めた。
$S_p(\hat{y}) = \sqrt{V_E\{1 + (1/n) + (X_0 - Xbar)^2 / S_{xx}\}}$
すなわち、有意差検定は反応性評価用試料の測定値（X_0，Ｙ）が回帰式上の点（X，Ｙ^）の予測区間に存在するか否かによった。

注）有意差検定は、回帰式上の点（X_0，Ｙ^）の予測区間を用いるため、相関分析の回帰式と相関係数ｒの大きさによりその幅が決められる。従って、精密さが悪い試薬キットや自動分析装置を使用した場合は、予測区間が広がり適となる反応性評価用試料が増加する。

５）反応性評価用試料の評価
最終的に候補品の試料の評価は、有意差検定と相対残差を用いて評価した。

（４）結果の解釈
１）精密さの評価
精密さの評価結果は、標準偏差の期待値（σ^）の大きさが、精密さの許容限界である個人の生理的変動幅（Sp）の Sp/2[6]を満たしているか否かで判断した。
２）相関分析
相関分析は、測定域の分布にかたよりが無く、異常なデータが含まれない散布図にした。目安として相関係数ｒ0.995 以上，回帰式のｙ切片ａの大きさが０に近似していること（個人の生理的変動幅（Sp）の Sp/2 未満）。
３）反応性評価用試料の評価
反応性評価用試料の評価は、相対残差の±10%未満を適とした。

３．結果

１）精密さの評価結果を表２に示した。精密さは、許容限界である個人の生理的変動幅（Sp）の Sp/2 を満たした。

２）相関分析の結果を表３～６にそれぞれ示した。

表２　ランダマイズ2回測定による精密さの評価

	キット名	回帰式　y=a+bx				Sy・x	差のSD	差の平均値	σ^
		n	r	a	b				
	JSCC基準自動化法	50	0.99974	0.593	1.00	2.06	2.04	0.56	1.48
1	JCCLS自動化法(NaCl添加	50	0.99972	2.683	0.99	2.20	2.37	0.18	1.66
2	CHE　ｶｲﾉｽ	50	0.99929	0.394	1.00	3.44	3.41	-0.22	2.39
3	ﾋﾟｭｱｵｰﾄ　CHE	50	0.99974	0.978	1.00	1.84	1.85	0.14	1.30
4	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ	50	0.99943	1.230	0.99	3.18	3.18	0.00	2.23
5	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ(N-	50	0.99951	-0.559	1.00	2.42	2.41	0.06	1.69
6	ｸｲｯｸｵｰﾄﾈｵ　Ch-E	50	0.99947	-0.287	1.00	3.04	3.01	0.08	2.11
7	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯ	50	0.99977	0.541	1.00	2.03	2.01	0.58	1.47
8	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯ	50	0.99979	0.594	1.00	1.92	1.90	0.24	1.34
9	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯ	50	0.99947	-0.415	0.97	2.97	3.74	-6.56	5.33
10	ﾃﾞﾀﾐﾅｰL　ChE	50	0.99961	0.488	1.00	2.48	2.45	0.46	1.75
11	ﾗﾝﾋﾟｱﾘｷｯﾄﾞ　ChE	50	0.9997	1.825	1.00	2.30	2.31	0.74	1.70
12	CHE試薬･L｢ｺｸｻｲ｣	50	0.99974	1.279	0.99	2.08	2.13	-0.22	1.50
13	Lﾀｲﾌﾟﾜｺｰ　ChE	50	0.99966	1.365	1.00	2.08	2.09	0.30	1.48
14	ｲｱﾄﾛ ChEﾚｰﾄ	50	0.99248	36.986	0.99	168.99	167.55	9.94	117.50
15	ｼｶﾘｷｯﾄﾞ　ChE	50	0.99967	1.582	0.99	2.32	2.36	0.10	1.65
16	自動分析装置試薬「栄研	50	0.99966	25.465	0.99	43.56	44.13	-0.10	30.89
17	ﾈｽｺｰﾄ　ChE-V2	50	0.9996	20.844	1.00	57.21	56.78	9.30	40.29
18	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯ	50	0.99676	2.807	0.99	7.54	7.51	0.52	5.27
19	日立705/7050ｼﾘｰｽﾞ　ｺﾘﾝ	50	0.99965	24.810	1.00	73.80	73.34	6.64	51.55

表３　　CHE-ERM候補品（オリエンタル）Lot No. ERM04501

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ(n=50)	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	JCCLS自動化法	553.8	3.56	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.06	1.48
1	JCCLS自動化法(NaCl添加)	570.4	2.07	500	0.9998	-0.714	1.038	574.2	-3.85	-0.67	○	568.13	580.36	○	○	2.20	1.66
2	CHE　ｶｲﾉｽ	550.6	2.79	500	0.9996	-1.224	1.009	557.4	-6.80	-1.22	○	548.58	566.22	○	○	3.44	2.39
3	ﾋﾟｭｱｵｰﾄ　CHE	478.2	1.64	500	0.9993	-0.952	0.892	493.2	-14.98	-3.04	○	483.69	502.66	×	○	1.84	1.30
4	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ	561.2	3.35	500	0.9991	-3.461	1.042	573.7	-12.48	-2.18	○	561.07	586.29	○	○	3.18	2.23
5	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ(N-type)	458.8	2.17	500	0.9993	1.111	0.847	470.2	-11.43	-2.43	○	460.90	479.56	×	○	2.42	1.69
6	ｸｲｯｸｵｰﾄﾈｵ　Ch-E	561.8	2.95	500	0.9996	-0.580	1.035	572.7	-10.95	-1.91	○	563.74	581.75	×	○	3.04	2.11
7	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-CL	576.8	1.10	500	0.9995	0.482	1.057	586.1	-9.29	-1.58	○	576.59	595.59	○	○	2.03	1.47
8	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-EL	558.4	1.95	500	0.9994	-1.565	1.025	566.1	-7.72	-1.36	○	555.82	576.42	○	○	1.92	1.34
9	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-S	538.0	3.32	500	0.9978	-6.646	1.035	566.7	-28.68	-5.06	△	546.82	586.54	×	×	2.97	5.33
10	ﾃﾞﾀﾐﾅｰL　ChE	527.8	4.02	500	0.9991	-1.571	0.980	541.0	-13.24	-2.45	○	528.98	553.10	×	○	2.48	1.75
11	ﾗﾝﾋﾟｱﾘｷｯﾄﾞ　ChE	559.6	2.88	500	0.9993	-2.085	1.037	572.3	-12.72	-2.22	○	560.64	584.01	×	○	2.30	1.70
12	CHE試薬･L｢ｺｸｻｲ｣	572.2	2.68	500	0.9994	6.715	1.014	568.0	4.21	0.74	○	558.08	577.91	○	○	2.08	1.50
13	Lﾀｲﾌﾟﾜｺｰ　ChE	484.4	2.07	500	0.9993	3.954	0.871	486.6	-2.17	-0.45	○	476.98	496.17	○	○	2.08	1.48
14	ｲｱﾄﾛ ChEﾚｰﾄ	8307.8	196.61	500	0.9978	126.817	15.050	8461.5	-153.70	-1.82	○	8168.82	8754.17	○	○	168.99	117.50
15	ｼｶﾘｷｯﾄﾞ　ChE	558.6	1.82	500	0.9993	3.596	0.993	553.3	5.34	0.96	○	542.06	564.46	○	○	2.32	1.65
16	自動分析装置試薬「栄研」736CHE	10161.0	30.33	500	0.9996	56.256	18.464	10281.8	-120.79	-1.17	○	10136.38	10427.20	○	○	43.56	30.89
17	ﾈｽｺｰﾄ　ChE-V2	12115.4	33.58	500	0.9992	168.670	22.022	12364.5	-249.14	-2.01	○	12102.86	12626.23	○	○	57.21	40.29
18	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-R	566.2	12.81	500	0.9984	7.945	1.025	575.5	-9.28	-1.61	○	558.69	592.27	○	○	7.54	5.27
19	日立705/7050ｼﾘｰｽﾞ　ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	16885.8	86.65	500	0.9993	212.736	30.804	17271.9	-386.08	-2.24	○	16940.46	17603.30	×	○	73.80	51.55

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表４　CHE-ERM候補品（旭化成ファーマ）

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ(n=50)	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	JCCLS自動化法	578.4	4.72	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.06	1.48
1	JCCLS自動化法(NaCl添加)	596.4	1.52	500	0.9998	-0.714	1.038	599.8	-3.39	-0.56	○	593.67	605.90	○	○	2.20	1.66
2	CHE　ｶｲﾉｽ	586.8	3.77	500	0.9996	-1.224	1.009	582.2	4.59	0.79	○	573.39	591.04	○	○	3.44	2.39
3	ﾋﾟｭｱｵｰﾄ　CHE	505.0	7.11	500	0.9993	-0.952	0.892	515.1	-10.13	-1.97	○	505.64	524.61	×	○	1.84	1.30
4	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ	595.2	1.10	500	0.9991	-3.461	1.042	599.3	-4.12	-0.69	○	586.70	611.94	○	○	3.18	2.23
5	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ(N-type)	485.0	1.58	500	0.9993	1.111	0.847	491.1	-6.07	-1.24	○	481.73	500.41	○	○	2.42	1.69
6	ｸｲｯｸｵｰﾄﾈｵ　Ch-E	601.8	7.26	500	0.9996	-0.580	1.035	598.2	3.59	0.60	○	589.20	607.23	○	○	3.04	2.11
7	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-CL	618.2	2.17	500	0.9995	0.482	1.057	612.1	6.10	1.00	○	602.59	621.61	○	○	2.03	1.47
8	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-EL	597.6	4.22	500	0.9994	-1.565	1.025	591.3	6.26	1.06	○	581.03	601.64	○	○	1.92	1.34
9	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-S	547.4	2.07	500	0.9978	-6.646	1.035	592.1	-44.75	-7.56	△	572.28	612.02	×	×	2.97	5.33
10	ﾃﾞﾀﾐﾅｰL　ChE	565.6	3.58	500	0.9991	-1.571	0.980	565.1	0.46	0.08	○	553.07	577.21	○	○	2.48	1.75
11	ﾗﾝﾋﾟｱﾘｷｯﾄﾞ　ChE	601.6	2.07	500	0.9993	-2.085	1.037	597.8	3.76	0.63	○	586.14	609.53	○	○	2.30	1.70
12	CHE試薬･L｢ｺｸｻｲ｣	597.6	2.79	500	0.9994	6.715	1.014	592.9	4.67	0.79	○	583.00	602.85	○	○	2.08	1.50
13	Lﾀｲﾌﾟﾜｺｰ　ChE	498.0	1.22	500	0.9993	3.954	0.871	508.0	-10.01	-1.97	○	498.41	517.62	×	○	2.08	1.48
14	ｲｱﾄﾛ ChEﾚｰﾄ	8615.6	202.35	500	0.9978	126.817	15.050	8831.7	-216.13	-2.45	○	8538.86	9124.60	○	○	168.99	117.50
15	ｼｶﾘｷｯﾄﾞ　ChE	571.8	1.30	500	0.9993	3.596	0.993	577.7	-5.88	-1.02	○	566.47	588.89	○	○	2.32	1.65
16	自動分析装置試薬「栄研」736CHE	10441.8	55.34	500	0.9996	56.256	18.464	10736.0	-294.21	-2.74	○	10590.51	10881.51	×	○	43.56	30.89
17	ﾈｽｺｰﾄ　ChE-V2	12449.0	79.06	500	0.9992	168.670	22.022	12906.3	-457.29	-3.54	○	12644.43	13168.15	×	○	57.21	40.29
18	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-R	581.4	16.58	500	0.9984	7.945	1.025	600.7	-19.29	-3.21	○	583.89	617.49	×	○	7.54	5.27
19	日立7O5/7O5Oｼﾘｰｽﾞ　ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	17609.6	76.70	500	0.9993	212.736	30.804	18029.7	-420.05	-2.33	○	17698.01	18361.29	×	○	73.80	51.55

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表５　CHE組換え体標品A（旭化成ファーマ）

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ(n=50)	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	JCCLS自動化法	507.2	1.64	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.06	1.48
1	JCCLS自動化法(NaCl添加)	516.2	2.28	500	0.9998	-0.714	1.038	525.9	-9.67	-1.84	○	519.76	531.97	×	○	2.20	1.66
2	CHE　ｶｲﾉｽ	511.4	5.86	500	0.9996	-1.224	1.009	510.4	1.01	0.20	○	501.58	519.20	○	○	3.44	2.39
3	ﾋﾟｭｱｵｰﾄ　CHE	263.6	2.19	500	0.9993	-0.952	0.892	451.6	-188.00	-41.63	×	442.12	461.07	×	×	1.84	1.30
4	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ	363.4	1.67	500	0.9991	-3.461	1.042	525.1	-161.72	-30.80	×	512.52	537.71	×	×	3.18	2.23
5	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ(N-type)	436.2	1.92	500	0.9993	1.111	0.847	430.8	5.44	1.26	○	421.43	440.08	○	○	2.42	1.69
6	ｸｲｯｸｵｰﾄﾈｵ　Ch-E	518.6	2.61	500	0.9996	-0.580	1.035	524.5	-5.90	-1.13	○	515.51	533.50	○	○	3.04	2.11
7	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-CL	505.6	3.21	500	0.9995	0.482	1.057	536.8	-31.21	-5.81	△	527.32	546.30	×	×	2.03	1.47
8	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-EL	504.8	2.28	500	0.9994	-1.565	1.025	518.4	-13.55	-2.61	○	508.07	528.64	×	○	1.92	1.34
9	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-S	483.4	3.29	500	0.9978	-6.646	1.035	518.4	-35.04	-6.76	△	498.60	538.27	×	×	2.97	5.33
10	ﾃﾞﾀﾐﾅｰL　ChE	492.6	1.67	500	0.9991	-1.571	0.980	495.4	-2.78	-0.56	○	483.33	507.42	○	○	2.48	1.75
11	ﾗﾝﾋﾟｱﾘｷｯﾄﾞ　ChE	524.8	2.95	500	0.9993	-2.085	1.037	524.0	0.81	0.15	○	512.32	535.66	○	○	2.30	1.70
12	CHE試薬･L｢ｺｸｻｲ｣	518.8	1.79	500	0.9994	6.715	1.014	520.8	-1.96	-0.38	○	510.86	530.67	○	○	2.08	1.50
13	Lﾀｲﾌﾟﾜｺｰ　ChE	450.8	1.30	500	0.9993	3.954	0.871	446.0	4.84	1.08	○	436.38	455.55	○	○	2.08	1.48
14	ｲｱﾄﾛ ChEﾚｰﾄ	7218.8	176.04	500	0.9978	126.817	15.050	7760.2	-541.37	-6.98	△	7467.82	8052.51	×	×	168.99	117.50
15	ｼｶﾘｷｯﾄﾞ　ChE	473.4	2.88	500	0.9993	3.596	0.993	507.0	-33.61	-6.63	△	495.82	518.20	×	×	2.32	1.65
16	自動分析装置試薬「栄研」736CHE	8953.0	37.91	500	0.9996	56.256	18.464	9421.4	-468.35	-4.97	○	9276.11	9566.59	×	○	43.56	30.89
17	ﾈｽｺｰﾄ　ChE-V2	10660.8	55.25	500	0.9992	168.670	22.022	11338.3	-677.51	-5.98	△	11076.92	11599.70	×	×	57.21	40.29
18	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-R	457.8	7.19	500	0.9984	7.945	1.025	527.7	-69.92	-13.25	×	510.96	544.49	×	×	7.54	5.27
19	日立7O5/7O5Oｼﾘｰｽﾞ　ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	15439.4	66.11	500	0.9993	212.736	30.804	15836.4	-397.02	-2.51	○	15505.38	16167.47	×	○	73.80	51.55

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表６　CHE組換え体標品B（旭化成ファーマ）

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ(n=50)	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	JCCLS自動化法	506.2	2.39	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.06	1.48
1	JCCLS自動化法(NaCl添加)	510.6	0.89	500	0.9998	-0.714	1.038	524.8	-14.23	-2.71	○	518.72	530.93	×	○	2.20	1.66
2	CHE　ｶｲﾉｽ	493.4	4.04	500	0.9996	-1.224	1.009	509.4	-15.99	-3.14	○	500.58	518.20	×	○	3.44	2.39
3	ﾋﾟｭｱｵｰﾄ　CHE	423.4	1.67	500	0.9993	-0.952	0.892	450.7	-27.30	-6.06	△	441.23	460.18	×	×	1.84	1.30
4	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ	483.0	2.00	500	0.9991	-3.461	1.042	524.1	-41.08	-7.84	△	511.48	536.67	×	×	3.18	2.23
5	N-ｱｯｾｲL ChE ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ(N-type)	449.4	1.34	500	0.9993	1.111	0.847	429.9	19.49	4.53	○	420.59	439.23	×	○	2.42	1.69
6	ｸｲｯｸｵｰﾄﾈｵ　Ch-E	503.6	4.16	500	0.9996	-0.580	1.035	523.5	-19.87	-3.80	○	514.47	532.46	×	○	3.04	2.11
7	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-CL	458.6	1.52	500	0.9995	0.482	1.057	535.8	-77.15	-14.40	×	526.26	545.24	×	×	2.03	1.47
8	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-EL	465.4	1.14	500	0.9994	-1.565	1.025	517.3	-51.93	-10.04	×	507.04	527.61	×	×	1.92	1.34
9	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-S	478.8	4.82	500	0.9978	-6.646	1.035	517.4	-38.60	-7.46	△	497.57	537.23	×	×	2.97	5.33
10	ﾃﾞﾀﾐﾅｰL　ChE	475.2	2.39	500	0.9991	-1.571	0.980	494.4	-19.20	-3.88	○	482.35	506.44	×	○	2.48	1.75
11	ﾗﾝﾋﾟｱﾘｷｯﾄﾞ　ChE	504.2	2.17	500	0.9993	-2.085	1.037	523.0	-18.75	-3.59	○	511.28	534.63	×	○	2.30	1.70
12	CHE試薬･L「ｺｸｻｲ」	528.4	4.28	500	0.9994	6.715	1.014	519.8	8.65	1.66	○	509.85	529.66	○	○	2.08	1.50
13	Lﾀｲﾌﾟﾜｺｰ　ChE	484.2	4.55	500	0.9993	3.954	0.871	445.1	39.11	8.79	△	435.50	454.68	×	×	2.08	1.48
14	ｲｱﾄﾛ ChEﾚｰﾄ	7237.0	73.21	500	0.9978	126.817	15.050	7745.1	-508.12	-6.56	△	7452.78	8037.46	×	×	168.99	117.50
15	ｼｶﾘｷｯﾄﾞ　ChE	497.8	4.15	500	0.9993	3.596	0.993	506.0	-8.22	-1.62	○	494.83	517.21	○	○	2.32	1.65
16	自動分析装置試薬「栄研」736CHE	9009.8	32.11	500	0.9996	56.256	18.464	9402.9	-393.09	-4.18	○	9257.65	9548.13	×	○	43.56	30.89
17	ﾈｽｺｰﾄ　ChE-V2	10460.0	118.90	500	0.9992	168.670	22.022	11316.3	-856.29	-7.57	△	11054.90	11577.68	×	×	57.21	40.29
18	ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ測定用「ｾﾛﾃｯｸ」ChE-R	521.4	4.51	500	0.9984	7.945	1.025	526.7	-5.30	-1.01	○	509.93	543.47	○	○	7.54	5.27
19	日立705/7050ｼﾘｰｽﾞ　ｺﾘﾝｴｽﾃﾗｰｾﾞ	15062.2	59.39	500	0.9993	212.736	30.804	15805.6	-743.42	-4.70	○	15474.58	16136.66	×	○	73.80	51.55

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

以上の結果より、コリンエステラーゼ測定用標準物質候品の反応性評価では、CHE-ERM 候補品(オリエンタル酵母)　Lot No.ERM04501 および CHE-ERM 候補品（旭化成ファーマ）の２標品が妥当であった。これによりこれらの２標品がコリンエステラーゼ測定用標準物質候として選択された。

文献

１）JCCLS 認証委員会　標準物質小委員会．コリンエステラーゼ酵素標準物質（ERM）Lot 001 の設定概要．日本臨床検査標準協議会会誌　2006；21(1)：61-69.

２）斉藤友幸，桑克彦．管理血清の酵素反応性試験．検査と技術　1996；24：761-764.

２－２－３－３　グリコアルブミン

本グリコアルブミン測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会による性能規格および測定手順のプロトコルにしたがってHECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法でのコミュータビリティの試験は、日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会委員の施設の協力により行った。

要旨

１）グリコアルブミン測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、日常検査法でのコミュータビリティの試験を行った。
２）グリコアルブミン測定用常用標準物質のプロトタイプの作製は、性状規格に基づくヒト血清を用いて、３レベルを調製し、基準測定操作法にて値付けを行った。
３）得られたプロトタイプについて、均質性と安定性およびコミュータビリティ試験を行った。
４）均質性試験では、各測定グループ間で有意差は見られなかった。
５）保存安定性は、―70℃保存で１年は安定であった。
６）実試料との反応性の比較をコミュータビリティ試験で確認したとこと、同等の反応性を有していたことが確認できた。

１．序文

グリコアルブミンは、アルブミンとグルコースが非酵素的糖化反応により結合したケトアミン化合物である。アルブミンはヘモグロビンより血中半減期が短いため、HbA1c よりも血糖コントロールの状態の変化をより迅速にかつ鋭敏に把握できることから、糖尿病治療開始時の効果判定に有用である。また、糖尿病の治療評価など厳格なコントロールが必要な場合の指標としても有用である。その他、グリコアルブミンは HbA1c に比較して、肝機能又は腎機能障害の影響を受けにくいといわれており、このような病態での血糖コントロールの把握にも有用である。

このようにグリコアルブミンは血糖コントロールにおける重要な指標であるが、測定方法としては、高速液体クロマトグラフィー（HPLC 法）が長年用いられてきた。しかし、カラムの状態、測定条件等によって値が異なるという問題がある他、カラムへの非特異吸着の問題が指摘されており、精確な値を HPLC 法を用いた方法では知ることが困難である。近年、酵素法が普及しているが、これは従来の HPLC 法による平均的な値に合うように補正が行われている。

以上からグリコアルブミン測定のトレーサビリティの確立を行い、精確さのよりどころを標準物質によって提供することが、強く求められている。グリコアルブミンの基準分析法としては、日本臨床化学会糖尿病態関連指標専門委員会において検討が行われてきた。平成 18 年 9 月 11 日に開催された委員会では、理論的観点、及び実検体を用いた解析を踏まえて、直接 SI 単位にトレーサビリティをとることが可能な糖化リジンの同位体希釈質量分析法(ID/MS)を基準分析法とすることに決定した。なお、グリコアルブミンは、糖リジンとアルブミンとのモル比（%）で表わされるが、アルブミンの分析法としては、JCTLM に免疫比濁法が実用分析法として登録されていることから、それを採用することとするが、将来は SI 単位にトレーサブルなアルブミンの同位体

希釈質量分析法を確立することとした。このグリコアルブミンのトレーサビリティ体系を図１に示した。

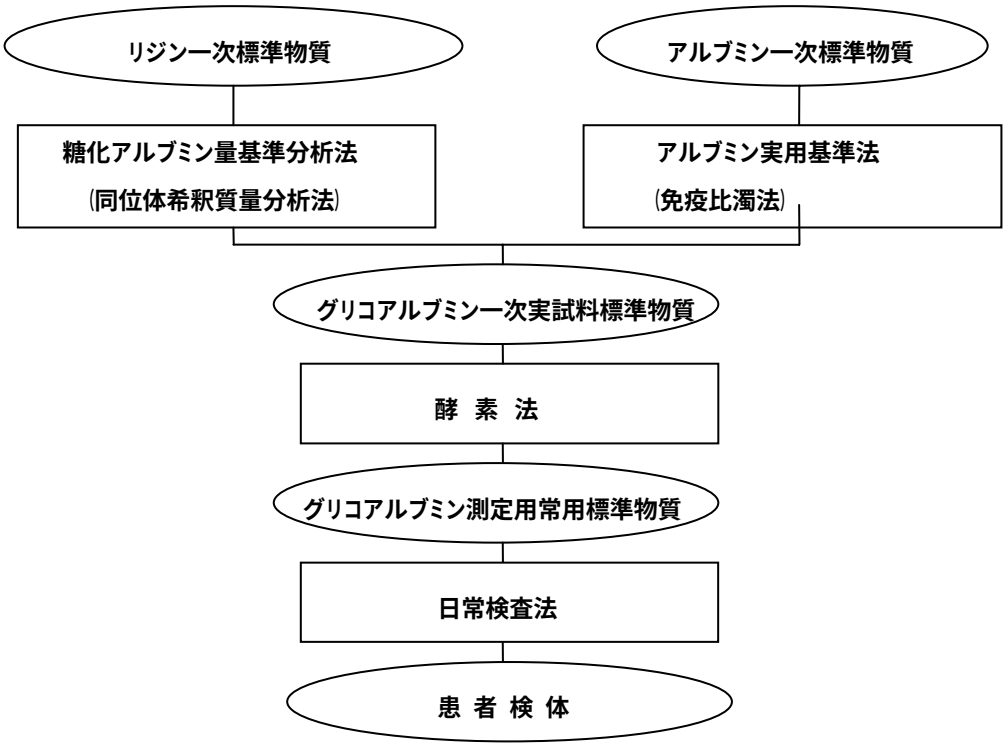


図1 グリコアルブミンの測定体系

２．グリコアルブミン測定用常用標準物質の規格

その規格を以下に示す。

（１）濃度は、10～40%の範囲で３レベルとし、おおよその濃度範囲は以下の通りとする。

レベル１： 20 ～ 30 %

レベル２： 30～ 40 %

レベル３： 50～ 60 %

（２）感染性については、Hbs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗原・抗体不検出のものとする。

３．グリコアルブミン測定用常用標準物質の作製方法

off-the-clot により得た血清原料を、グリコアルブミン濃度 20～30%、30～40%、50～60%に仕分けし、それぞれについてろ過器を用いてろ過後、プラスチックバイアル瓶に分注し、蓋を閉め－70℃以下で保存する。

４．血清中糖化アルブミンの測定法

⑴ 測定概要

本法の測定手順は図 2 に示すように、先ず血清から精製分取したアルブミン画分に、糖化リジ

ンの安定同位体を内標準として添加して同位体平衡化する。その後、糖化リジンを化学的に安定なヘキシトールリジン基にするために還元水素化する。次に熱塩酸中でアルブミンを完全に加水分解して、アルブミンを構成する全てのリジン残基を遊離させる。減圧下で残留する塩酸を除去後得られたアミノ酸の乾固物を溶媒に溶解し、そこに含まれる糖化リジンの水素化物の同位体比を LC/MS で測定する。

(2) 試薬

N_{α}－t－BOC－L－Lysine は 国産化学製を、
$^{13}C_6$-β－D－Glucose は Medical Isotope 社(USA)製で純度 99.3 atom ^{13}C%のものを、
β－D－Glucose は NIST SRM917b 純度 99.7%のものを、
HCℓは関東化学製 ultra pure grade のものを、
メタノール,HFBA(Hepta-Fluoro Butyric Acid), アセトニトリル, NaOH 及び $NaBH_4$ は和光純薬工業製の analytical grade をそれぞれ使用する。

(3) 糖化リジン及びその安定同位体の合成

N_{ε}－(1－Deoxy－D－fructos－1-yl) lysine (fructosyl-lysine) は、
β－D－Glucose 及び N_{α}－t－BOC－L－Lysine を用い、文献による方法から合成した。また、同様にして、N_{ε}- (1－Deoxy－D－$^{13}C_6$-fructos－1-yl) lysine ($^{13}C_6$- fructosyl－lysine)は、
$^{13}C_6$－β－D－Glucose と N_{α}－t－BOC－L－lysine から合成する。

(4) 標準液の調製

fructosyl－lysine 及び $^{13}C_6$-fructosyl－lysine は、潮解性が強いため、吸湿による秤量変化を求めて補正し、所定の濃度の標準液を調製した後、N_{α}－t－BOC－fructosyl－lysine (純度 98%以上、旭化成ファーマより入手)を基準として、ケトアミン測定試薬(Asahi Kasei Pharmer Corp 製)を用いて濃度を確認する。調製濃度と測定濃度との差は相対値で±2%以内とする。このようにして、fructosyl－lysine 及び $^{13}C_6$－fructosyl－lysine の標準液原液 (濃度 10mmoℓ/ℓ) をまず調製し、それを水で希釈してそれぞれ 50nmoℓ/g の標準液を調製する。その 2 つをブレンドし、fructosyl-lysine と $^{13}C_6$-fructosyl-lysine の重量比 0.8、1.0、1.2 の校正用溶液を調製する。

(5) 装置

装置等は必ずしも以下のものに限るものではないが、例として示す。
液体クロマトグラフ質量分析計は、島津製作所製 LCMS－2010EV を、サンプル注入にはオートインジェクタ SIL-HTc を使用する。
液体クロマトグラフィーのカラムには、
カラム: Shim-pack VP-ODS (2.0mmI.D. x 150mmL.)
を使用する。

(6) 測定条件

高速液体クロマトグラフ及び質量分析計の測定条件の例を以下に示す。

移動相 A:　0.05% ヘプタフルオロブチル酸水溶液
移動相 B:　アセトニトリル
タイムプログラム:　3%B (0 min) -27%B (10 min)
-60%B (15-16 min) -3%B (16.01) -STOP (30 min)
移動相流量:　0.2 mL/min
試料注入量:　1μL
温度:　40℃
また、質量分析計の条件の例を以下に示す。
イオン化モード: ESI +
霧化ガス流量:　1.5 L/min
Drying gas 圧:　0.1 MPa
印可電圧:　+4.5 kV
Cerved Desolvent Line 電圧:　Constant mode
Cerved Desolvent Line 温度:　250℃
Heat block 温度: 200℃

分析モード:　SIM 測定
m/z: 311.2, 317.2
取込時間:　0.5 sec-4ch

(7) 血清試料からのアルブミンの精製

異なる 17 検体の血清を、Shodex-Asahipak ES202N 7C(2.0×150mm)を 5 本連結した陰イオン交換カラムを用い、50mM グリシンと 220mM 塩化マグネシウムを含む溶離液（pH8.5）により、流速 1mL/min で分画した。サンプル量は 500μL とする。アルブミンは 8～12 分に溶出し、それを 3 倍に水で希釈後、限外ろ過器ミリポア製 Ultra Free-15(限外分子量 15 k Da)を用いて、500μL に濃縮する。この濃縮液を再び同じようにして精製をくり返す。最終的には 250μL の精製濃縮アルブミン溶液を得、限外ろ過により 10mL 水を用いて 3 回リンスを行う。得られたアルブミン濃度は約 10m g /mL である。

(8) 糖化アルブミンの水素化と酸加水分解

(a) 封管用のガラス管(内容量 1mL)にアルブミンとして 1mg(約 0.015μmoL)のアルブミン試料(約 100μL)及び 100μM 糖化リジン安定同位体溶液(40μL – 100μL)を 0.1mg 単位で精密に秤量し、1 時間混和することにより同位体平衡とする。

(b) ついで、60mM NaBH4 (0.2M NaOH に溶解して用時調製) 40μL を加え、室温で4～5時間ゆっくり混和して糖化物を水素化したものに 10M HCl を 4μL 加えて未反応の $NaBH_4$ を分解する。

(c) このガラス管内に 10M HCl(300μL)加え、水で総液量を 500μL にし、ガラス管を窒素気流中の減圧下のもとバーナーで封管する。

(d) 110～115℃の恒温器中に置き 24 時間かけてアルブミンを完全に加水分解する。

(e) 加水分解が終了したガラス管を室温まで冷却し、内容物を減圧下、50～60℃で完全に塩酸

を除去する。

(f) この乾固物を 4mM HFBA（1mL）に溶解し、LC-MS 測定に供する。

(9) 糖化リジンの ID/MS 測定方法

(a) 前述の 0.8、1.0、1.2 の校正用溶液を質量分析計に注入し、m/z 311.2 及び 317.2 のマスクラマトグラム面積比を定量し、検量線を作成する。

(b) 引き続きサンプル 10 個を連続的に測定する。

(10) アルブミン濃度の測定

血清中アルブミン濃度は旭化成ファーマ製 BCP 測定試薬(ケトアミン測定試薬ルシカに内包)で求める。

(11) GA（%）の算出

GA（%）＝総糖化リジン濃度／総アルブミン濃度×100

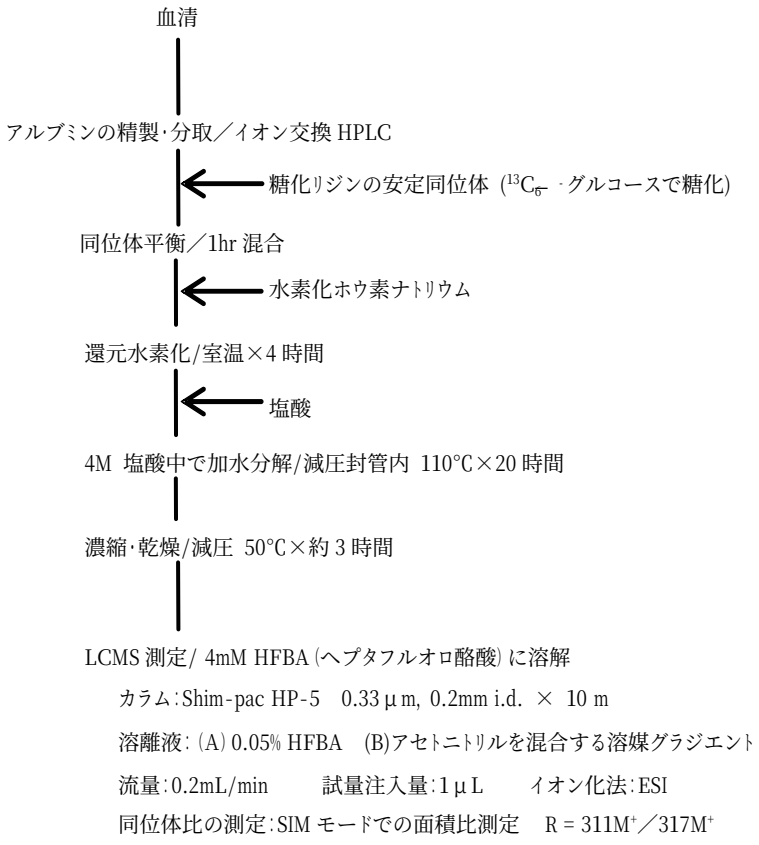


図 2 測定手順

5. 本法と日常検査法との関係

本法により、実検体につき全操作を行った 5 試料の測定精度を求めたが、CV=1.5%であった。

次に患者血清 17 検体について、本法とＧＡの日常法でそれぞれ測定してそれらの関係を調べた。図 3 は酵素法（GA 測定試薬ルシカ）と本法の測定値の関係を示したものである。ただし、酵素法の測定値は糖化リジン標準液で検量した値である（酵素法の日常検査法の値は HPLC 法と一致するように校正されている)。双方の測定値は相関係数 0.996 以上の完全な直線関係が示し、本法が約 10%低値となったが両者の測定値はほぼ一致した。このような結果が得られたのは、酵素法ではアルブミンをアミノ酸とペプチドに酵素分解後、糖化部位のケトアミン基を酵素反応により選択的に酸化して測定しているので、最終的な測定対象物が本法と同じであるためと考えられる。

また、本法と HPLC 法との比較では、相関係数 0.994 の直線関係となり、酵素法と同様な結果となった。なお、本法の測定値が HPLC 法の 2 倍であること、HPLC 法での測定対象物が糖化アルブミンであることから、1 分子の糖化アルブミンに結合している糖化リジン残基の数は平均 2 個であると推定される。

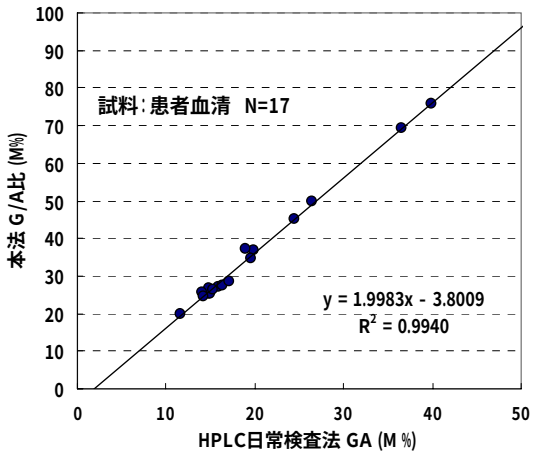


図 3.　本法と日常検査法との相関性
G/A比はアルブミン結合糖化リジンと
アルブミンのモル比を示す。

６．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

	レベル 1	レベル 2	レベル 3	
グリコアルブミン	21.4±0.9	32.6±1.0	59.3±1.8	%
	214±9	326±10	593±18	mmol/mol

1)不確かさは ISO 指針（GUM：計測における不確かさの表現のガイド）に従って求め、拡張不確かさで表した。拡張不確かさ U は、u を標準不確かさ、k を包含係数とし、U＝ku で求められる。上記の不確かさにおいては k＝2 である。

７．性状の評価

7－1　血清密度及び代表的成分

本常用標準血清の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	参 考 値	単 位	測 定 方 法
密　度	1.024 (25℃)	g/cm^3	
総タンパク	7.3	g/dl	ビュレット法
アルブミン	4.4	g/dl	BCG 法
グロブリン	2.8	g/dl	免 疫 法
アンモニア性窒素	0.16	mg/dl	除タンパク比色法
アスコルビン酸	0.2 以下	μg/ml	比 色 法
総コレステロール	133	mg/dl	酵 素 法
中性脂肪	53	mg/dl	酵 素 法

7－2　均質性及び安定性

（1）均質性

本常用標準物質は室温で液状であり、分注後は凍結状態で保管される。保管までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。このことは ISO ガイド 34 に特記されている。ガイド 34 によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することとした。すなわち、分注の最初、中間、及び最後の各グループから、それぞれバイアル容器を５本づつ抜き取り、均質性試験を行った。その結果、最初、中間、最後の各グループの平均値も有意な差（95%信頼区間）は見られず、均質であるといえる。

（2）保存安定性

1，3，6，12 ヶ月間保存した標準物質の保存安定性試験の結果を以下に示す。これから、－70℃保存では１ヶ年は安定である。

標準物質の GA 値の安定性（保存前の酵素法での GA 測定値を 1.00 とした）

保管条件	経過月数				
	0	1	3	6	12
凍結（-70℃）	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00
冷蔵	1.00	1.00	1.01	1.00	0.98

7－3　コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は、目的とする検体とマトリックスが同じであることが要求されるが、、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用する。しかし、この場合、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、日常法によっては、原料の性状に鋭敏に反応する場合がある。このことから、実試料標準物質は通常の検体と性質が同じであって、対象とする測定法による検体の測定値に標準物質の表示値が移行できなければならず、それが示されればその標準物質はコミュータビリティがあるといえる。

コミュータビリティの評価にはNCCLSのガイドラインを参考にすることとし、ガイドラインの基礎をなすPassing – Bablokの直線回帰式を用いてコミュータビリティの評価を行った。

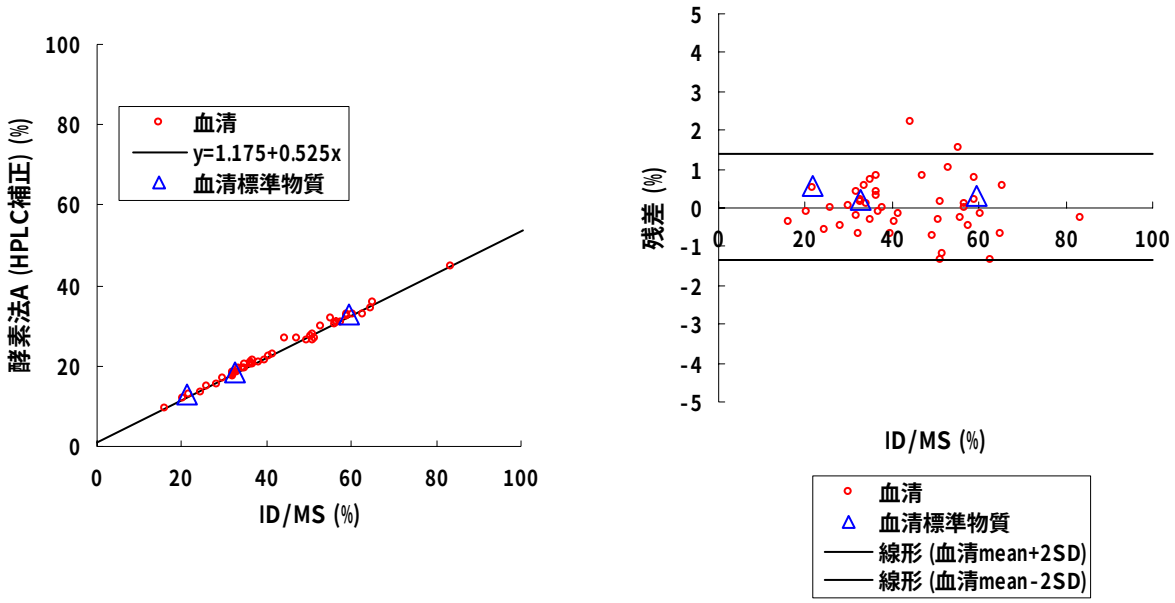


図4　糖化アルブミンのコミュータビリティ評価結果（左は回帰直線、右は残差プロット）

図4に示すように、標準物質のばらつきは、実検体である血清のばらつきの95%信頼区間内にはいり、本標準物質はコミュータビリティがあるといえる。

８．　結論

トレーサビリティの体系に含まれるグリコアルブミン測定用常用標準物質の確立について検討を行った。表示値の測定方法としては、SIにトレーサブルな同位体希釈質量分析法を採用した。また不確かさは、常用標準物質として十分小さいものであった。

本常用標準物質は、出来る限り検体に類似したものとするため、血清の凍結品とし、防腐剤、安定剤を加えず、代わりに滅菌ろ過を行い、溶解後の安定性及び保存安定性を得ている。以上の

ように、日常測定法の正確さを評価することの出来るグリコアルブミン測定用常用標準物質を確立することが出来た。

文献

1）Nelson DM, Barrows HJ, Clapp DH, Ortman Nabi-J, White-hurst RM. Glycosylated serum protein levels in diabetic and nondiabetic pregnant patients: an indicator of short-term glycemic control in the diabetic patient. Am J Obstet Genecol 1985;151:1042-1047.

2）Garlic RL, Mazer JS. The principal site of nonenzymatic glycosylation of human serum albumin in vivo. J Biol Chem 1980;258:6142.

3） Dolhofer R, Wieland OH. Glycosylation of serum albumin : elevated glycosyl-albumin in diabetic patients. FEBS Lett 1979;103:282-286.

4） McFarland YF, Catalano EW, Day JF, Thorpe SR, Bayness JW. Nonenzymatic glycosylation of serum proteins in diabetes mellitus. Diabetes Vol 28 1979;28:1011-1014.

5） Day JF, Ingebretsen CG, Ingebretsen WR, Baynes JW, Thorpe SR. Nonenzymatic glucosylation of serum proteins and hemoglobin:response to changes in blood glucose levels in diabetic rats. Diabetes Vol 29 1980;29:524.

6） Shima K, Ito N, Abe F, Hirota M, Yano M, Yamamoto Y, Uchida U, et al. High-performance liquid chromatographic assay of serum glycated albumin. Diabetologia 1988;31:27-631.

7） Yasukawa K, Abe F, Shida N, Koizumi Y, Uchida T, Noguchi K, Shima K. High-performance affinity chromatography system for rapid efficient assay of glycated albumin. J Chromatogr 1992;597:271-275.

8） Hoshino T, Takahashi Y, Suzuki M. Application of High-performance liquid chromatography in establishing an accurate index of blood glucose control. J Chromatogr 1990;515:531-536.

9）Ikeda K, Sakamoto Y, Kawasaki Y, Miyake T, Tanaka K, Urata T, et al. Determination of glycated albumin by enzyme linked boronate immunoassay ELBIA. Clin Chem Acta 1998;44:256-263.

10） Kouzuma T, Usami T, Yamakoshi M, Takahashi M, Imamura S. An enzymatic method for the measurement of glycated albumin in biological samples. Clin Chim Acta 2002;324:61-71.

11） Yoshimi M, Makoto M, Tsutomu I. Reduction of reaction differences between human mercaptalbumin and human nonmercaptalbumin mesured by the bromcresol purple method. Clin Chim Acta 1999;289:69-78.

12） Baynes JW, Thorpe SR, Murtiashaw MH. Nonenzymatic glycosylation of lysine residues in albumin. Methods in enzymology Vol 106 1984;106:88-98.

13) NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guidelines. Document EP9-A(ISBN 1-56238-283-7) 1995 NCCLS Wayne,PA.

14) Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20, 1984;22:431-45

２－２－３－４　イオン化カルシウム

本イオン化カルシウム測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会（現 POCT 専門委員会）による性能規格、レファレンス標準セルによる測定手順のプロトコルにしたがって HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法でのコミュータビリティの試験は、金沢医科大学病態診断医学教室の福永壽晴委員らの協力により行った。

要旨

１）本イオン化カルシウム測定用常用標準物質のプロトタイプ日常検査法でのコミュータビリティの試験を行った。

２）コミュータビリティの評価には、NCCLS のガイドライン二より行い、さらに Passing – Bablok の直線回帰式と、残差プロットを用いて評価した。

３）その結果、日常検査法との関係において、標準物質のプロトタイプと実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていたことから、本標準物質のプロトタイプにはコミュータビリティがあることが確認できた。

１．序文

体内のカルシウムのうち、99%以上が骨と歯に存在し、1%弱が骨格筋、細胞外液などに存在している。健常人の血清カルシウム濃度は約 10mg/dl であり、アルブミン結合形、Ca 塩の形、及びイオン化カルシウムの３分画に分けられる。血液中イオン化カルシウム濃度は、生理的に調節されているが、血液の pH変化とともに変動するため、体内の酸塩基平衡状態を診るのに有用である。

血液中のイオン化カルシウム濃度はイオン電極法により測定されるが、この方法は試料のマトリックスの影響を受けるため、マトリックスを有した標準物質による装置の校正が不可欠といえる。また、それにより測定値の互換性が得られることになる。そこで、本研究では、イオン化カルシウム測定のための血清ベースの標準物質と、そのトレーサビリティ体系の確立を目的に行うこととした。

イオン化カルシウムの測定は、現状では化学量論的な基準法が設定できないため、実用基準法としての IFCC 勧告法で基準を設定する必要がある [1-4)]。すなわち、一次検量用溶液（Primary Calibration Solution,PCS）をもとに、実用一次検量用溶液（Modified Primary Calibration Solution,MPCS）を作製し、これを用いてイオン電極法による実用基準法を検量する。このとき用いるシステムは、IFCC 勧告法に規定されたレファレンス標準セル（Reference Standard Cell,RSC:Covingron-Umemoto cell）による（図１）。

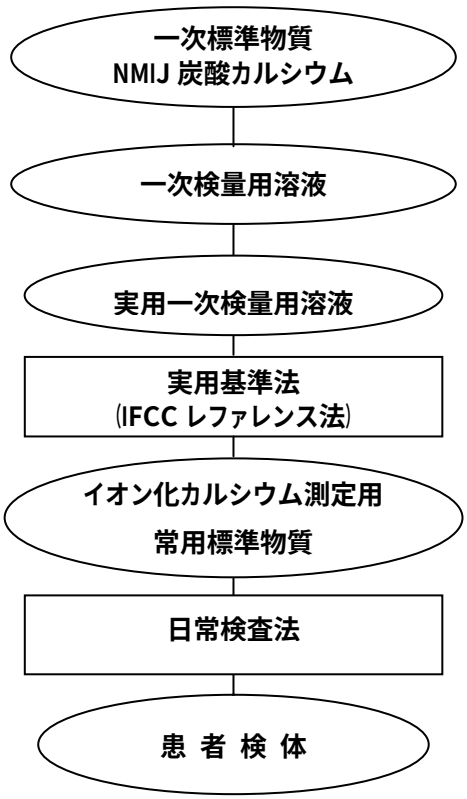


図1 イオン化カルシウムの測定体系

２．イオン化カルシウム測定用常用標準物質の規格

イオン化カルシウム測定用常用標準物質のマトリックスは血清である。しかしながら、イオン化カルシウムを測定する現場では、試料としては血清の他に全血が用いられる。全血の場合、赤血球が残余液間電位に正のバイアスを生じるといわれているため、血清マトリックスの標準物質を基準とすることに疑念が出る可能性がある。しかし全血をマトリックスとすることは現代の技術では困難であるため、安定性の高い血清で代用する以外に方策は見当たらない。血清マトリックスではあるが、本常用標準物質を精確さのよりどころとすることにより、全血試料の場合においても施設間差が縮小することに異論はない[5, 6]。

血清を用いた本常用標準物質の仕様を以下に示す。

（１） イオン化カルシウム濃度は１～1.7mmol/l の範囲の２レベルとし、おおよその濃度範囲は以下の通りとする。

レベル１：1　～1.3　mmol/l

レベル２：1.4　～1.7　mmol/l

（２）密度は 1.022～1.025g/cm3 (25□) の範囲内とする。

（３）水分量　0.930±0.005Kg/l（25℃）の範囲内とする。

（４）pH は 7.45±0.05（37□）の範囲内とする。

（５）感染性は HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出であることとする。

３．イオン化カルシウム測定用常用標準物質の作製

カルシウム濃度が低濃度域又は正常域であって、採血後 2 週間以内のヒト血清を用意し、低濃度域及び中濃度域の原料を適宜ブレンドし、イオン化カルシウム濃度が 1.2～1.3mmol/l となるように調整する。高濃度用は、塩化カルシウムを加えて、イオン化カルシウム濃度が 1.5～1.6 mmol/l になるように濃度調整する。次に二酸化炭素を用いて血清の pH が、7.40±0.05(30□)となるように調節後、非通気性の袋に密封して 20℃に設定した恒温水槽に入れる。この状態で血清の二酸化炭素ガス平衡を保ちつつ、ガラスアンプルに 1ml ずつ分注し直ちに溶封する。その後、-70℃で冷凍保管する。pH のバイアル間差は±0.01 以内とする。

４．表示値の測定方法

血清試料に対する pH 値およびイオン化カルシウム濃度の決定のために用いる実用基準法は、それぞれ IFCC の pH 測定の勧告法およびイオン化カルシウム濃度測定勧告法に従い、規定された測定装置の性能を満たしたうえで実施する。なお検量用溶液の試薬規格と調製方法は、IFCC のイオン化カルシウム濃度測定の勧告法に従うとともに、測定はレファレンス標準セルによる[7-10]。

（１）一次検量用溶液：PCS

本溶液の組成を表１に示す。

（２）実用一次検量用溶液：MPCS

本溶液は HEPES(1mmol/l)を含む一次検量用溶液である。

（３）試薬の規格

一次および実用一次検量用溶液を作製するために用いる試薬の規格を表２に示す。

（４）レファレンス標準セルの性能

この標準セルは電位差を利用するもので、カルシウムイオン活量に応答する。しかし、臨床化学においては、イオン電極法によって得られた結果を、活量でなく濃度で表すことが行われてきた。そのために、校正に用いる検量用溶液は濃度で表示し、もって、測定値が濃度で表されるようになっている。

レファレンス標準セルは２つの半電池からなり、１つは ISE 半電池と呼ばれる。これはカルシウムイオン選択性膜と、一定のカルシウムイオン活量をもった内部溶液、及び銀・塩化銀参照電極から構成される。２つ目は、参照電位を示すもので、飽和塩化カリウム(KCl)溶液に浸したカロメル内部参照電極からなる。これら２つの半電池は、飽和 KCl 溶液と試験溶液の間をなす液絡部によって接続されている。

レファレンス標準セルについては、IFCC Working Group on Selective Electrodes により３つの型が採用されている。本研究では、日本で開発されたセルを使用した。

・レファレンス標準セル測定の注意点

イオン化カルシウムをイオン選択性電極により測定する際に生じる重要な問題点は、プロテインジャンプである。これは血清試料を測定した後、蛋白質が電極のメンブランに吸着してメンブランの性質を変化させ、次の校正溶液に対する電極の応答が変化してしまうもので、これによる誤差は無視できない程大きい。このプロテインジャンプを最小限にしない限り、測定値は大きな誤差を有することになる。しかし、このメンブランへの蛋白吸着はメンブランの組成をうまく調

整し、かつ、血清を測定後、強いリンス液で十分に洗浄をくり返すことにより、蛋白吸着したメンブランをもとの状態に戻すことができる。これらの点については、文献 2）に詳しく記載してある。本研究では、このプロテインジャンプを最小とするレファレンス標準セルにより測定を行った。

本測定システムの要をなすレファレンス標準セルの性能規格を表３に示した。また、その測定手順の概略を図２に示した。すなわち規定された実用一次検量用溶液（MPCS）で電極を校正した。アンプル入りの血清試料を 25±0.1℃において融解して、一定温度のもとで攪拌することによりガス平衡とし pH を一定にした。次に、その電位を計測した。そののち電極を空気を混入しながら MPCS で 5 回以上洗浄したのち、再度 MPCS を導入してその電位を計測し、初期の電位が得られていることを確認した。このとき得られた血清試料の定量値を最終的な測定値とした。

表１　一次検量用容液の組成

No	Ca^{2+} (mmol/l)	Ca^{2+} (mmol/Kg)	Na^{+} (mmol/Kg)	Cl^{-} (mmol/Kg)
1	1.250±0.006	1.266	156.25	158.75
2	0.250±0.001	0.253	159.25	159.75
3	2.500±0.01	2.526	152.50	157.50

pH 調節範囲：pH7-8, イオン強度：160.0±0.5 mmol/l

表２　試薬の規格

試薬	純度	備考
$CaCO_3$	99.9%以上	NIST SRM 915
NaCl	99.9%以上	Ca 含量 2×10^{-6}%以下
HCl (30%)	99.9%以上	Ca 含量 0.01%以下
NaOH(50%)	99.9%以上	Ca 含量 0.1%以下
HEPES	99%以上	Ca 含量 0.1%以下

NIST:National Institute of Standads and Technology

SRM:Standard Reference Materials

表３　レファレンス標準セルの性能規格

	イオン交換体型	ニュートラルキャリア型
ネルンストスロープ (%)	98-100	98-100
レスポンスタイム (sec)		
95%	＜30	＜30
100%	120-150	120-150
ドリフト (mv/hr)	＜0.13	＜0.13
ノイズレベル (mv)		
MPCS*	＜±0.01	＜±0.01
血清	＜±0.02	＜±0.02
繰り返し性 (mv)		
MPCS*	＜0.03	＜0.03
血清	＜0.05	＜0.05
キャリーオーバー (mv)	＜0.1	＜0.05

*modified primary calibration solution（実用一次検量用溶液）

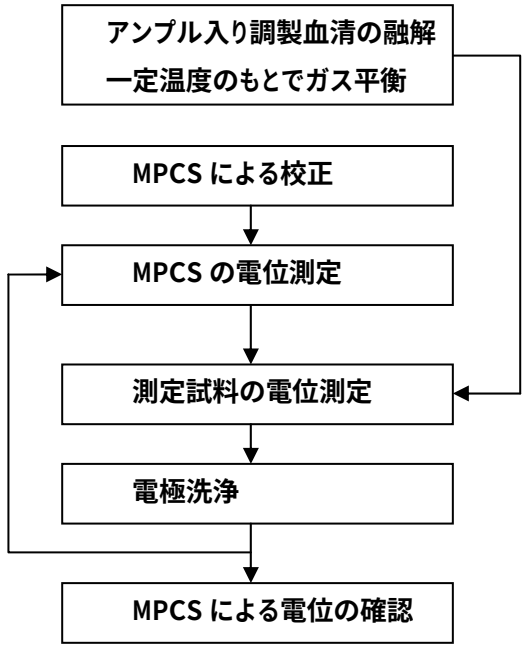


図２　レファレンス標準セルによる測定手順の概略

５．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

	レベル1	レベル2	
イオン化カルシウム	1.20 ± 0.03	1.51 ± 0.04	mmol/l

1)不確かさは ISO 指針（GUM：計測における不確かさの表現のガイド）に従って求め、拡張不確かさで表した。拡張不確かさ U は、u を標準不確かさ、k を包含係数とし、U＝ku で求められる。上記の不確かさにおいては k＝2.3 である。

2)正確さのトレーサビリティの確保：表示値測定の標準液調製には、NIST SRM 915a 炭酸カルシウム（純度 99.965 ±0.015%）を用いた。表示値の測定における血清試料及び標準液の調製は、計量法校正事業者認定制度に基づく認定事業者により校正された天秤を用いて行った。

６．性状の評価

6－1　血清密度及び代表的成分

本常用標準物質の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	参 考 値	単 位	測 定 方 法
密　度	1.025 (25℃)	g/cm^3	
粘性率	1.6 (20℃)	mPa･s	
水分量	0.930 (25℃)	kg/l	
pH（中濃度）	7.45 (37℃)		
（高濃度）	7.45 (37℃)		
HCO_3^-	25 (37℃)	mmol/l	
Li	0.1 以下	mmol/l	フレーム光度法
NH_4^+	0.3	mmol/l	除タンパク比色法
無機リン	3.8	mg/dl	比 色 法
クエン酸	0.1	mmol/l	比 色 法
乳酸	3	mmol/l	酵 素 法
総タンパク	7.3	g/dl	ビュレット法
アルブミン	4.5	g/dl	BCG 法
中性脂肪	111	mg/dl	酵 素 法
総コレステロール	184	mg/dl	酵 素 法
リン脂質	210	mg/dl	酵 素 法

6－2　均質性及び安定性

（1）均質性

本常用標準物質は室温で液状であり、分注後アンプル封入され、凍結状態で保管される。分注までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。また、アンプル充填時の不測の原因により、アンプル充填したあるグループが不均質となることがある。ISO ガイド 34 によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することとした。すなわち、アンプルの最初、中間、及び最後の各グループから、それぞれバイアル容器を５本づつ抜き取り、均質性試験を行った。その結果、最初、中間、最後の各グループの平均値も有意な差（95%信頼区間）は見られず、均質であるといえる。

（2）保存安定性

ISO ガイド 34 によれば、安定性試験は十分な均質性が実証された後で実施されなければならない。上記のように、均質性については十分といえるので安定性試験を行うこととした。安定性試験は２つに分類される。本常用標準物質は溶解後使用されるが、それが、未開封（アンプル封入）の状態で、少なくとも常温で１時間は安定であるか否かという溶解後の安定性と、もう１つは保管安定性である。前者については、溶解直後、１時間後、及び、２時間後の試料を同時に精密な

測定法で測定し、差を比較する方法によった。試料はそれぞれ５本とした。その結果、溶解直後を基準とし、1 時間後及び２時間後の変化を求めたところ、それぞれ相対値で表すと－0.3%、+0.1%となり、いずれも有意な差は見られなかった。

以上から、溶解後２時間は安定であることが言える。

次に、保存安定性試験を行った。本常用標準血清は防腐剤を加えてないが、冷凍状態で保管されるので冷蔵品又は凍結乾燥品と比較して保存安定性に優れている。しかし、イオン化カルシウムの場合、冷凍であっても保存温度条件によっては長期間の保存中に変化が生じる恐れがある。そこで、-20℃における安定性を調べた。すなわち、１，４，６ヶ月ごとに５本を抜き取り-80℃保存のものを対照として比較した。そ－20℃での安定性はなく、したがって-70℃で保存する必要があることがわかる。－70℃での安定性試験結果を次表に示したが、一年間は安定であった。

標準物質の iCa 濃度の安定性（保存前の日常電極法での iCa 測定値を 1.00 として）

保管条件	経過月数		
	0	6	12
凍結（-70℃）	1.00	1.00	1.00

（３）コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は、目的とする検体とマトリックスが同じであるが、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用する場合などにおいては、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体を原料としたものまたはその割合が多いものを原料とした場合、そのマトリックスは通常の検体と同じとはいえない。このように、通常の検体と性質が同じであって、対象とする測定法による検体の測定値が標準物質の表示値にトレーサブルであるといえるようなマトリックスを有した実試料標準物質であれば、それはコミュータビリティがあるといえる。

コミュータビリティの評価にはNCCLSのガイドラインが一般的に用いられる[11]。本研究では、そのガイドラインの基礎をなすPassing – Bablokの直線回帰式と、残差プロットを用いてコミュータビリティの評価を行った[12](図３)。

図３から、日常検査法との関係において、標準物質と実試料の回帰式は同じでありかつ標準物質のばらつきは、実試料のばらつきの95%信頼区間に入っていたことから、本標準物質にはコミュータビリティがあるといえる。

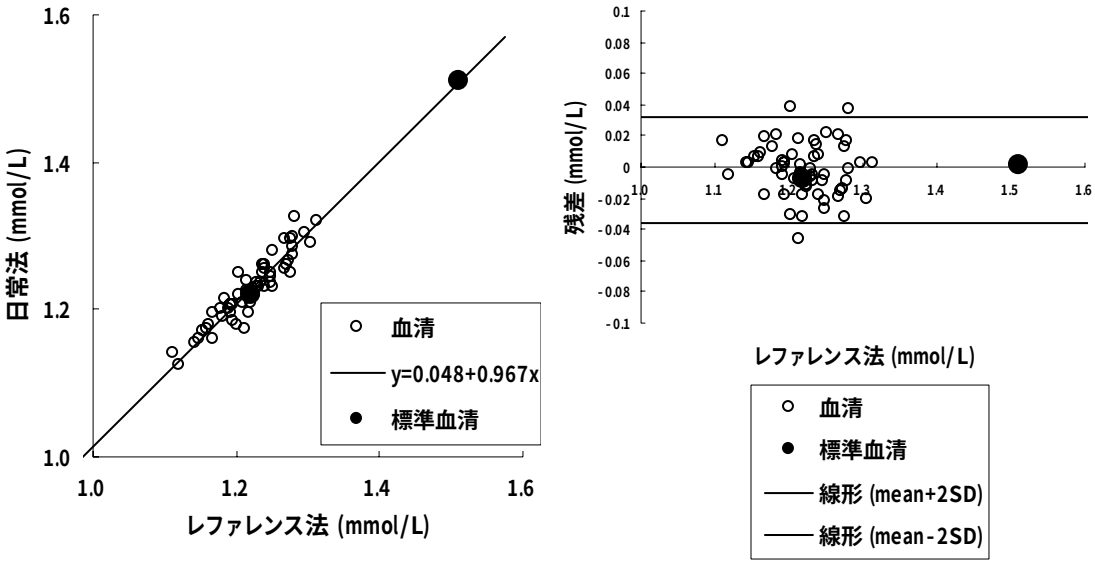


図３　コミュータビリティ試験

７.結論

トレーサビリティの体系に含まれるイオン化カルシウム測定用常用標準物質の確立について検討を行った。表示値の測定方法としては、IFCC 勧告法を採用し、その不確かさは、常用標準物質として十分小さいものであった。

本常用標準物質は、出来る限り検体に類似したものとするため、血清の凍結品とし、防腐剤、安定剤を加えず、代わりに滅菌ろ過を行い、溶解後の安定性及び保存安定性を得ている。以上のように、日常測定法の正確さを評価することの出来るイオン化カルシウム測定用常用標準物質を確立することが出来た。

文献

1) 日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会：イオン電極法による血液中イオン化カルシウム濃度測定測定の勧告法―測定システムと標準血清による校正方法．臨床化学 22:279-290,1993.
2) Umemoto M, Tani W, Kuwa K : Development of refernce materials for standardization of ionized calcium and blood gases, Electrolytes Blood Gases Other Crit Anal : Patient Measurement Government 14 : 17-59, 1992.
3) Umemoto M, Ujihara Y, Kuwa K, Tani W : A proposed reference cell for measurement of ionized calcium in plasma with ion-selective electrodes and elucidation of factors affecting the results. Anal Chem 66:352A-356A, 1994.

4) Maas AHJ, Weisberg HF, Burnett RW, Muller-Plathe O, Wimberley PD, Zijlstra WG, Zijistra WG, Durst RA, Siggaard-Andersen O : Approved IFCC methods . Reference method(1986) for pH measurement in blood. Clin Chim Acta, 165 : 97-109, 1987.
5) 谷　渉、梅本雅夫、桑　克彦：イオン化カルシウム濃度測定の機器間差と標準試料、日本臨床化学会関東支部会誌 2 : 30-32, 1992.
6) 日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会：血液中イオン化カルシウム濃度測定法－測定システムと標準血清、日本臨床化学会関東支部会誌 2 : 63-67, 1992.
7) Boink ABTJ, Buckley BM, Christiansen TF, Covington AK, Maas AHJ, Muller-Plathe O, Sachs C, Siggaard-Andersen O : IFCC recommendation on sampling, transport and storage for the determination of the concentration of ionized calcium in whole blood, plasma and serum, Eur J Clin Chem Clin Biochem 29 : 767-772, 1991.
8) 桑　克彦 ：イオン化カルシウムの測定、検査と技術 19 : 119-124, 1991
9) Kuwa K, Umemoto M : Reference system for ionized calcium concentration measurement in blood. Clin Chem 38 : 939, 1992.
10) Boink ABTJ, Buckley MB, Burnett RW,et.al. Reference method for the determination of the substance concentration of ionized calcium in serum, plasma or whole blood. IFCC Working Group on Selective Electrodes. IFCC Document Stage 1 1996-06-06
11) NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guidelines. Document EP9-A(ISBN 1-56238-283-7) 1995 NCCLS Wayne,PA.
12) Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 21:709-20, 1883, 22:431-45, 1984.

２－２－３－５　ヘモグロビン A1c （HbA1c ）

本 HbA1c 測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会（星野忠夫委員長）による性能規格および測定手順のプロトコルにしたがって HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法での性能評価試験のためのプロトコルおよび評価試料の作製は、日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会委員の施設の協力により行った。さらに、日常検査法による総合的な不確かさの評価実験および評価基準の設定は、JCCLS 認証委員会標準物質小委員会（桑　克彦小委員長）で行った。

要旨

１）本 HbA1c 測定用常用標準物質のプロトタイプについて、日常検査法による総合的な不確かさの評価実験を行い、この結果を用いて HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価基準の設定を行った。

２）HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価基準設定試験の実施にあたっては、HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法により、計 31 施設（ユーザー22、メーカー９）おいて HPLC 法（3 施設で 14 種）、免疫法（17 施設で 21 種）および酵素法（１施設で４種）により以下の条件で測定を行った。

３）測定試料は、患者全血試料、ただし、遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもので[2)]、HbA1c 濃度値は HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)の認証値[3)]に近似した濃度の５レベルとしたもの(HCTEF SRC で調製)を用いた。

４）測定は各レベルについて一日２重測定を 15 日間行い、各測定グループ（メーカーおよび測定法）別の平均値、標準偏差をそれぞれ求めた。

５）測定試料の参考値は、JDS 校正の KO500 法（HECTEF SRC で実施）により一日２回測定を２日間行って求めた。

６）統計処理は、測定値についての統計処理は、施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析によった。

７）総合的な不確かさの評価は、ISO の認証標準物質の使い方にしたがい、選択された測定グループについて評価パラメーターを算出した。評価に際しては、一日に繰返し測定した平均値で評価する場合と連日に繰返し測定した平均値で評価する場合に分けて、総合的な不確かさの評価基準幅をそれぞれ求めた。

８）測定試料の５レベルの測定値について施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析により統計処理を行い、実験データから推定された変動成分別 SD と CV をメーカーの測定法間変動、測定グループ間変動、日間変動、日内変動および総合変動（各変動の分散の２乗和の平方根）についてそれぞれ算出した。その結果、測定グループ間変動の方がメーカーの測定法間変動より大きかった。また、日間変動の方が日内変動より大きかった。このうち日間変動の寄与率が大きかった。

９）標準物質の認証値の不確かさ（拡張不確かさ）から標準不確かさを得、単日反復測定および連日反復測定（10 日間）での標準不確かさと拡張不確かさをそれぞれ算出した。その結果、

単日反復測定での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.3%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.6%値、レベル５で±0.8%値となった。また、連日反復測定（10 日間）での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.2%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.5%値、レベル５で±0.7%値となった。

１．序文

ヘモグロビンの寿命はアルブミンなどの他の血中タンパク質に比べて長く、ヘモグロビンが糖化した HbA1c は、約１ヶ月間の平均的な血糖レベルを反映することから、HbA1c は血糖コントロールを客観的に示す指標として日常検査において測定されている。HbA1c は高速液体クロマトグラフィー（HPLC 法）による測定が一般的であったか、近年は免疫学的測定法も広く普及するに到っている。

HbA1c は施設間差が大きい項目の一つであったが、日本糖尿病学会の臨床検査の標準化に関する委員会による標準化作業により、施設間差が縮小してきている。しかし、HPLC 法と免疫抗体法との原理的な違いによる差があること、HPLC 法においてもカラム分離能の差、分析条件の違い等による差異が存在するため、トレーサビリティのとれた標準物質の設定が施設間差の解消に不可欠といえる。さらに、IFCC の HbA1c ワーキンググループによる、HbA1c の新しい定義に基づく標準化が進められており（下図）、将来はこれに基づいたトレーサビリティ体系を確立する必要がある。本研究は、これらを踏まえて、HbA1c 測定用常用標準物質を開発するために行われた。

上述の一つの目的である、国内における施設間差の縮小のためには、常用標準物質が伝達性を有し、値決めが信頼性の高い測定法により行われなければならない。又、基準範囲が大きく変わり、医療において混乱を生じないためには、従来の値と整合するような測定方法が望ましい。一方、IFCC の標準化と連携するには、IFCC レファレンス法による測定値が付されていることが必要である。したがって標準物質の使命からすれば、この両者をとり入れたものにすることが最も好ましいといえる。

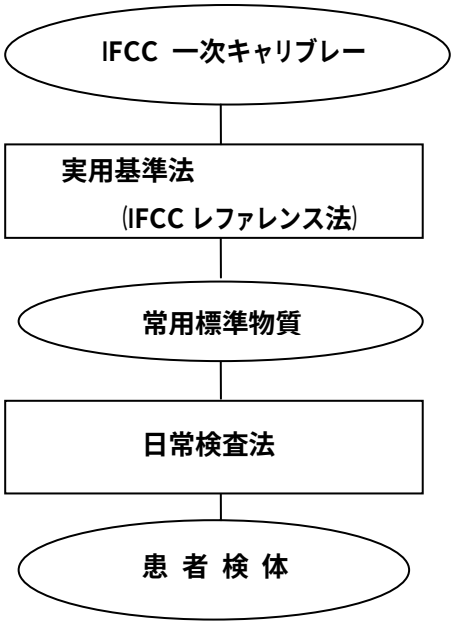


図1 SI 単位トレーサブルな IFCC 一次キャリブレータを用いるHbA1cの測定体系

２．HbA1c 測定用常用標準物質の規格

本標準物質は、その主目的が診断用測定試薬及び装置の校正と、それらの校正物質（キャリブレーター）及び内部精度管理物質（コントロール）の表示値の値決めに用いる。したがって、一般の患者検体に見られる、異常な成分を含まないように規定するとともに、Hb の変性が生じた試料も除外するように規定した。また、Hb 濃度が大きく変動すると影響を受ける日常法があり、血漿成分が含まれると影響を受ける日常法があることなどを考慮し、これらについても規定をした。

調製する試料の仕様を以下に示す。

（１）HbA1c 濃度　　4～13%範囲内であって 4～5，5～6，7～8，9～10，10 以上%の５レベルとする。

（２）総 Hb 濃度は 140±10 g / l とする。

（３）HbF は 1%未満とする。

（４）MetHb は 6%未満とする。

（５）グルタチオンアダクトは 0.5%未満とする。

（６）異常 Hb は含まれないこと。

（７）血漿成分は含まれないこと。

３．HbA1 c 測定用常用標準物質の作製

調製方法について以下に示す。

まず異常ヘモグロビンを含まないヒト全血を各個体別に集め、HbA1c 濃度が 4～5%，5～7%，10%以上のものに区分けする。この３種のものを、それぞれについて遠心分離と生理食塩による洗浄を４回繰り返すことにより洗浄赤血球を得、ブレンドして 4～5，5～6，7～8，9～10，10 以上%のものを調整する。水を加えて洗浄後溶血させる。次に高速遠心分離法により血球膜ゴー

ストを除き、炭酸塩系緩衝液を加えて、透析したものを小分けして、液体窒素に保管する。

４．表示値の測定方法

日本臨床化学会、糖尿病関連指標委員会では、高分離能高速液体クロマトグラフィーである KO500 法に用途や精度等の条件を付加し、実用基準法としている。以下、KO500 法および実用基準法の概要について述べる。

KO500 法は、イオン交換モードを用いた HPLC 法で、血中ヘモグロビンを細分画し、ヘモグロビンのβ鎖の N 末端にグルコースが１個結合した β-N-[1-deoxyfructosyl]. h emoglobin（St-GhbA1c）を測定する方法である。

４－１　測定方法

（１）試料の前処理

血中試料より血漿を取り除き、赤血球層と同量のサンプル希釈液（2mmol/L HEPES,0.01％NaN_3, pH7.2）を加え溶血する。溶血後直ちに分析に供するか、-70℃以下で保存し、分析前にサンプル希釈液にて８倍希釈し、遠心分離（9000g、5 分、4℃）後、上清を HPLC 注入サンプルとする。

（２）分析条件

カラム；TSK-gel GlycoHSi, 4.6x 100mm（Tosoh）

流速：0.4mL/min

カラム温度：25℃

溶離液 A：20mmol/L MES, 20mmol/L HEPES, 0.01％ NaN_3（pH5.20）

溶離液 B：20mmol/L MES, 20mmol/L HEPES,400mmol/L NaCl 0.01％ NaN_3（pH7.00）

検出：415nm

注入量：4.L

（３）グラジエント条件

時間（分）	0	10	16	17	35	36	38	39	50
％　B	18	19	23	24	27	80	80	18	stop run

（４）測定値の算出

HbA_{1c} ピーク面積の、総ヘモグロビンピーク面積に対する百分率を HbA_{1c}（％）とする。

５．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

５－１　認証値及び不確かさ

JCCLS CRM – 004a の HbA_{1c} 認証値及び不確かさは以下の通りである。

単位： HbA1c%

種　類	HbA1c 認証値	拡張不確かさ
レベル 1	4. 54	±0. 05
レベル 2	5. 27	±0. 06
レベル 3	6 .96	±0. 08
レベル 4	9. 24	±0. 10
レベル 5	11. 58	±0. 13

認証値の拡張不確かさは ISO の指針（計測における不確かさの表現のガイド）に従って、測定の基準とした JDS Lot2 の不確かさと実験誤差成分に均質性を含めた不確かさを合成して、拡張不確かさ（95%信頼水準、包含係数 2）として示した。

５－２　認証値の測定施設

JCCLS CRM – 004a の各認証値は病態解析研究所、HECTEF スタンダードレファレンスセンター、慶応義塾大学医学部及び日本大学医学部附属板橋病院で測定した。これらの施設は、日本臨床化学会糖尿病関連指標専門委員会が定めた「日本 HbA1c 測定基準施設（網）整合性試験判定基準案」の性能基準を満たしている。

６．性状の評価

６－１　血清密度及び代表的成分

本常用標準血清の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	本標準物質の性状	測 定 方 法
材料	ヒト全血（n=約 30)	
総 Hb 濃度	125 ～ 135 g/l	ICSH 法
HbF	1%以下	KO500 法
MetHb	4 ～ 6 %	Van　Assendelft 法
グルタチオンアダクト	0.1%以下	KO500 法
異常 Hb	含まない	KO500 法
血漿成分	含まない	

６－２　均質性及び安定性

（１）均質性

本常用標準物質は室温で液状であり、分注後は凍結状態で保管される。分注までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。このことは ISO ガイド３４に特記されている。ガイド３４によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することと

した。すなわち、分注の最初、中間、及び最後の各グループ 500 本から、それぞれバイアル容器を５本ずつ抜き取り、均質性試験を行った。その結果、最初、中間、最後の各グループの平均値も有意な差（95%信頼区間）は見られず、均質であるといえる。

（２）保存安定性

ISO ガイド３４によれば、安定性試験は十分な均質性が実証された後で実施されなければならない。上記のように、均質性については十分といえるので安定性試験を行うこととした。安定性試験は２つに分類される。本常用標準物質は溶解後使用されるが、それが、未開封（アンプル封入）の状態で、少なくとも常温で１時間は安定であるか否かという溶解後の安定性と、もう１つは保存安定性である。前者については、溶解直後、１時間後、及び、２時間後の試料を同時に精密測定法で測定し、差を比較する方法によった。試料はそれぞれ５本とした。その結果、溶解直後を基準とし、1 時間後及び２時間後の変化を求めたところ、それぞれ相対値で表すと＋0.4%、－0.1%となり、いずれも有意な差は見られなかった。

以上から、溶解後２時間は安定であることが言える。

次に、保存管安定性試験を行った。本常用標準物質は防腐剤を加えてないが、HbA1c の場合、冷凍であっても保存温度条件によっては長期間の保存中に変化が生じる恐れがある。しかし、経験的に-70℃以下で保存すれば１ヶ年は安定であることがわかっている。以下では、より普及度の高い-20℃保存の冷凍庫での保存安定性を調べることとした。なお、HbA1c の-20℃の安定性については、原料により安定性が異なるため、５レベル全てにおいて行うこととした。その結果を以下に示す。これから、ユーザーにおいて一時保管に十分な期間である２ヶ月間の安定性に問題はない。

表　－20℃保存における２ヶ月間安定性

	レベル1	レベル2	レベル3	レベル4	レベル5
A(-70℃保存)	2.309	3.482	5.220	7.505	10.063
B(-20℃保存)	2.322	3.506	5.210	7.497	10.153
(B-A)/A　%	0.56	0.69	-0.19	-0.11	0.89

（３）コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は、目的とする検体とマトリックスが同じであるが、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用する場合などにおいては、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体を原料としたもの又はその割合が多いものを原料とした場合、そのマトリックスは通常の検体と同じとはいえない。このように、通常の検体と性質が同じであって、対象とする測定法による検体の測定値が標準物質の表示値にトレーサブルであるといえるようなマトリックスを有した実試料標準物質であれば、それはコミュータビリティがあるといえる。

コミュータビリティの評価には、CAP(College of American Pathologists)の方法が一般的に用いられる。本研究では、CAP の方法の基礎をなす Passing – Bablok の直線回帰式を用いてコミュータビリティの評価を行った。

7．使用方法

使用方法を以下に示す。

（1）フリーザーから JCCLS CRM – 004a のプラスチックバイアルをとり出し、室温で約 10 分かけて自然解凍する。

（2）ボルテックミキサー等を用いて内容物を十分混合する。

（3）内容物をバイアルの底の方に集める。内容物を完全にバイアル底部に集めるには 1000rpm で 30 秒ほど遠心分離する。

（4）本標準物質の Hb 濃度は 130～150 g /L である。使用する HbA1c 測定装置、試薬の説明書の記載に従い希釈して測定する。

注 1）本標準物質を解凍した後、室温で長時間放置しないこと。また、一度解凍したものは再凍結して使用できない。

8. 使用上の注意

本標準物質の原材料は HBs 抗原、HCV 抗体および HIV 抗原・抗体の検査を行い陰性の結果を得ていますが、感染性を完全に否定できませんので、保護手袋を着用するなど患者検体と同様に十分注意して取扱ってください。

9．購入後の保存方法

（1）JCCLS CRM – 004a はドライアイスと共に発送される。到着時にドライアイスが残っている必要があり、ドライアイスが残存していないものは使用できない。

（2）到着後、ただちに JCCLS CRM – 004a が入ったケースを取り出し、－70℃以下のディープフリーザーに移して、温度変動の少ない奥又は底部で保管する。

注 2）到着後 2 日以内に使用する場合は冷蔵保管できる。

10. 有効期限

－70℃保管での有効期限は、ラベルに記載の出荷日より 6 ヶ月である。

11. 結論

トレーサビリティの体系に含まれる HbA1c 測定用常用標準物質の確立について検討を行った。本常用標準物質は、出来る限り検体に類似したものとするため、調製法、及び規格を厳密なものとした。また、実験の結果、溶解後の安定性及び長期間の保存安定性は得られた。

IFCC HbA1c WG の IFCC レファレンス法に基づく体系への移行がヨーロッパ、及び日本で進められているが、移行が全世界的にスムーズに行かない最も大きな理由として、IFCC レファレンス法による値と、従来の各国の DCM（Designated Comparison Method）による値との間には無視でき

ない差が存在し、臨床の現場に混乱を招く恐れがある。例えば、日本の DCM である KO500 法（ｙ）と IFCC レファレンス法（ｘ）との間には

$$y = 0.927x + 1.73$$

という関係がある。これによれば、KO500 法で 5.8%に対し、IFCC レファレンス法では 4.4%となり、HbA1c として IFCC レファレンス法による値は 1.4%低値となる。この差は大きいため、IFCC のレファレンス体系に変更するには臨床医の十分な理解が不可欠である。このような医療現場の混乱を回避するため、日本糖尿病学会の臨床検査の標準化のための委員会では、啓蒙のためのアンケート調査の他、IFCC のレファレンス体系における基準範囲の設置などの作業を行ってきた。

海外では、アメリカ糖尿病学会（ADA）が中心となって、従来の HPLC を用いて測定された HbA1c と IFCC レファレンス体系による HbA1c とを区別しようとする動きがある。これによると、2004 年初めから、ADA(Americal Diabetes Association)、EASD(European Association for the Study of Diabetes)及び IDF(International Diabetes Federation)からなる糖尿病グループが会合を開き、IFCC レファレンス体系は、新しいグローバルスタンダードとすべきであり、ラボ認定の基礎とすべきであるが、現状では、HbA1c 値を IFCC 値に変更すべきでない。HbA1c と MBG(the Mean Blood Glucose)の等価性がワールドワイドに証明されれば、HbA1c は MBG の指標となり、IFCC レファレンス体系による HbA1c を MBG と呼ぶように進めたい。という内容に要約できる。これについて、IFCC HbA1c WG は、HbA1c と MBG の等価性を支持してはいないが、2006 年 12 月に出るテスト結果を待つことにしている。この他に、IFCC レファレンス体系による HbA1c の名称を変更し、別名称にして混乱を避けようとする案も出されている。

文献

１）Eckfelds JH, Copeland KR, The College of American Pathologists Protocol. Arch Pathol Lab Med 1993;117:381-6

２）Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20, 1984;22:431-45

[追記]：HbA1c 測定の日常検査法における総合的な不確かさ評価と基準について設定した。以下のその概要を示す。

注記：真度(trueness)はかたより(bias)の程度を示す指標であり、いわゆる系統誤差（系統不確かさ）の尺度となるが、偶然誤差（偶然不確かさ）の情報をもたない。しがって測定結果の性能についての総合的な指標ではない。このことからここでは総合的な不確かさである拡張不確かさによって表現する。

１．適用範囲

HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価の手順と基準は、HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法に適用する。

２．評価手順

総合的な不確かさの評価は ISO ガイド 33 の規格[1)] に従って以下の手順で行う。

（1）測定

HbA1c 測定用標準物質の５レベルを測定試料として、以下のいずれかのやり方で測定する。可能であれば２）項の連日反復測定が望ましい。

なお、測定試料は HbA1c 測定用標準物質の５レベルの代用として、HbA1c 測定の性能評価用試料（患者全血試料、ただし、1500G、10 分の遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもの[2)]）の５レベル（参考値付）を用いることができる。

１）単日反復測定：各レベルについて 10 重測定を１日間行う

２）連日反復測定：各レベルについて１回２重測定を 10 日間行う

（2）評価データの算出

得られた測定値を用い、外れ値の存在を検討した後、測定値の平均値を求める。

３．総合的な不確かさの評価基準

各レベルについて、測定値の平均値と HbA1c 測定用標準物質の認証値[3)]（表１）との差が評価基準Ⅰ（表２）あるいは評価基準Ⅱ（表３）の範囲内であること。

なお、測定試料として、HbA1c 測定の性能評価用試料の５レベル（参考値付き）を用いた場合は、測定値の平均値と HbA1c 測定の性能評価用試料の参考値との差を用いる。

表１　HbA1c 測定用標準物質 JCCLS CRM-004a(JDS Lot 3)の認証値[3)]

種類	HbA1c（%値）	拡張不確かさ（%値）
レベル　1	4.54	±0.05
レベル　2	5.27	±0.06
レベル　3	6.96	±0.08
レベル　4	9.24	±0.10
レベル　5	11.58	±0.13

表２　HbA1c 測定における総合的な不確かさの評価基準Ⅰ

単日反復測定：各レベル、１日１回 10 重測定

種類	HbA1c（%値）
レベル　1	±0.3
レベル　2	±0.3
レベル　3	±0.4
レベル　4	±0.6
レベル　5	±0.8

表３　HbA1c 測定における総合的な不確かさの評価基準Ⅱ

連日反復測定：各レベル、１日２重測定、10 日間

種類	HbA1c（%値）
レベル　1	±0.3
レベル　2	±0.2
レベル　3	±0.4
レベル　4	±0.5
レベル　5	±0.7

４．バリデーション

HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法については、その当該メーカーによるバリデーションには、上記の総合的な不確かさの評価試験の結果を含めることとする。

５．解説

HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価の手順と基準は、2006 年秋に実施した HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価試験結果を用いて設定した。

（１）総合的な不確かさの評価基準設定試験概要

１）実施手順

HbA1c 測定の総合的な不確かさの評価基準設定試験の実施にあたっては、HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)にトレーサブルな日常検査法により、計 31 施設（ユーザー22、メーカー９）おいて HPLC 法（3 施設で 14 種）、免疫法（17 施設で 21 種）および酵素法（１施設で４種）により以下の条件で測定を行った。

（ｉ）測定試料：患者全血試料、ただし、遠心後の上清部分を生理食塩水で置換したもので[2]、HbA1c 濃度値は HbA1c 測定用標準物質(JCCLS CRM-004a)の認証値[3]に近似した濃度の５レベルとしたもの(HCTEF SRC で調製)。

（ⅱ）測定は各レベルについて一日２重測定を 15 日間行い、各測定グループ（メーカーおよび測定法）別の平均値、標準偏差をそれぞれ求めた。

（ⅲ）参考値は KO500 法（HECTEF SRC で実施）により一日２回測定を２日間行って求めた。

２）統計処理

（ｉ）測定値についての統計処理は、施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析によった。

（ⅱ）総合的な不確かさの評価は ISO の認証標準物質の使い方[1]にしたがい、選択された測定グループについて評価パラメーターを算出した。評価に際しては、一日に繰返し測定した平均値で評価する場合と連日に繰返し測定した平均値で評価する場合に分けて、総合的な不確かさの評価基準幅をそれぞれ求めた。

（２）結果の概要

測定試料の５レベルの測定値について施設内の外れ値、次いで測定グループの外れ値について棄却処理を行ったのち、３段枝分かれ分散分析により統計処理を行い、実験データから推定された変動成分別 SD と CV をメーカーの測定法間変動、測定グループ間変動、日間変動、日内変動および総合変動（各変動の分散の２乗和の平方根）についてそれぞれ算出した。結果のまとめを表１および表２にそれぞれ示した。その結果、測定グループ間変動の方がメーカーの測定法間変動より大きかった。また、日間変動の方が日内変動より大きかった。このうち日間変動の寄与率が大きかった。

次いで標準物質の認証値の不確かさ（拡張不確かさ）から標準不確かさを得、単日反復測定および連日反復測定（10 日間）での標準不確かさと拡張不確かさをそれぞれ算出した。その結果、単日反復測定での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.3%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.6%値、レベル５で±0.8%値となった。また、連日反復測定（10 日間）での拡張不確かさ（少数点第２位を切り上げ）は、レベル１で±0.3%値、レベル２で±0.2%値、レベル３で±0.4%値、レベル４で±0.5%値、レベル５で±0.7%値となった。

表１　変動成分別SDとCV値
(HbA1cの単位：%値)

試料	KO500法	選択施設		実験データから推定された変動成分別 SD と CV									
				メーカー間		施設間		日間		日内		総合	
	参考値	Mean		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
S-1	4.72	4.71		0.089	1.9	0.080	1.7	0.085	1.8	0.072	1.5	0.163	3.5
S-2	5.25	5.23	*	0.035	0.7	0.080	1.5	0.078	1.5	0.070	1.3	0.135	2.6
S-3	7.28	7.28		0.098	1.3	0.119	1.6	0.125	1.7	0.082	1.1	0.215	2.9
S-4	9.52	9.57		0.138	1.4	0.157	1.6	0.152	1.6	0.105	1.1	0.279	2.9
S-5	11.12	11.15		0.193	1.7	0.248	2.2	0.189	1.7	0.093	0.8	0.378	3.4

＊ ： > 0.05

表２　拡張不確かさ
(HbA1cの単位：%値)

試料	JCCLS CRM-004a		単日反復測定における真度の評価基準				連日反復測定における真度の評価基準			
			標準不確かさ		拡張不確かさ		標準不確かさ		拡張不確かさ	
	認証値	標準不確かさ	HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値	HbA1c%	相対値
S-1	4.54	0.03	0.15	3.2	0.30	6.4	0.12	2.6	0.25	5.2
S-2	5.27	0.03	0.12	2.3	0.24	4.6	0.09	1.8	0.18	3.5
S-3	6.96	0.04	0.20	2.8	0.40	5.6	0.16	2.2	0.32	4.4
S-4	9.24	0.05	0.26	2.8	0.53	5.5	0.21	2.2	0.43	4.5
S-5	11.58	0.07	0.37	3.3	0.75	6.7	0.32	2.9	0.64	5.8

文献

１）認証標準物質の使い方．JIS Q 0033：1997（ISO GUIDE 33：1989）
２）宮下徹夫､他. HbA1c 測定における精確さの伝達の仕方と患者試料での互換性確認の方法案．臨床化学 35(補冊１)：7-8, 2006
３）HbA1c 測定用実試料標準物質（一次キャリブレーター）JCCLS CRM-004a の認証書、HbA1c 測定用実試料標準物質（一次キャリブレーター）JCCLS CRM-004a の取扱説明書.
http://www.jccls.org/active/standard.html

（2006 年秋に実施した HbA1c 測定の真度の評価試験の参加メーカーおよび測定法は、アークレイ株式会社（HPLC 法）、協和メデックス株式会社（免疫法）、シスメックス株式会社（HPLC 法、免疫法）、株式会社常光（HPLC 法）、第一化学薬品株式会社（酵素法）、デイドベーリング株式会社（免疫法）、東ソー株式会社（HPLC 法）富士レビオ株式会社（免疫法）、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社（免疫法）であった。ご協力いただいた各施設に感謝します。）

２－２－３－６　総カルシウム

本総カルシウム測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会（現 POCT 専門委員会）による性能規格および測定手順のプロトコルにしたがって HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法でのコミュータビリティの試験は、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会委員およびその協力施設により行った。

要旨

１）本総カルシウム測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、プロトタイプについて日常検査法でのコミュータビリティ試験を行なった。

２）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

３）濃度レベルは２濃度とした。調製した試料について均質性と安定性を調べた。その結果、各グループの平均値には有意な差は見られなかった。また、保存安定性試験では 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

４）表示値は、NIST 原子吸光光度法にて行い、併せて不確かを算出した。

５）得られた表示値についての妥当性の評価は、JCTLM による比較評価試験方法に従って行った。その結果、バイアスは２％以内となった。

６）コミュータビリティの評価は、NCCLS のガイドラインにより行った。さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。その結果、標準物質のプロトタイプ及び実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていることから、本標準物質のプロトタイプのコミュータビリティが確認できた。

１．序文

健常人の血清カルシウム濃度は薬 10mg/dl であり、アルブミンと結合したもの、炭酸塩、リン酸塩などの塩として存在しているもの、そして、イオン化カルシウムとして存在しているものの 3 種類に分画される。血中カルシウム濃度は、副甲状腺ホルモン及び活性型ビタミン D の働きにより、およそ 8.5～10.5mg/dl という極めて狭い範囲に維持されている。

高カルシウム血症をきたす疾患は 30 以上もあり、従って高カルシウム血症の存在がわかれば、種々の病気の診断を迅速に行うことができる。また、低カルシウム血症がわかれば、他の測定と合わせて、診断に関する種々の有益な情報をえることができる。欧米においても、血清中カルシウムの測定は重要視されており、そのトレーサビリティ体系の確立は重要である。

総カルシウム測定のトレーサビリティ体系においては、純物質としてのマグネシウム一次標準物質と、血清マトリックスを有し、基準法である同位体希釈質量分析法により値決めされた一次実試料標準物質が確立され、次に実用基準法である原子吸光光度法により値決めされ、一次実試料標準物質によりトレーサビリティの確認された総カルシウム常用標準物質が確立される必要が

ある。その体系を図１に示す。

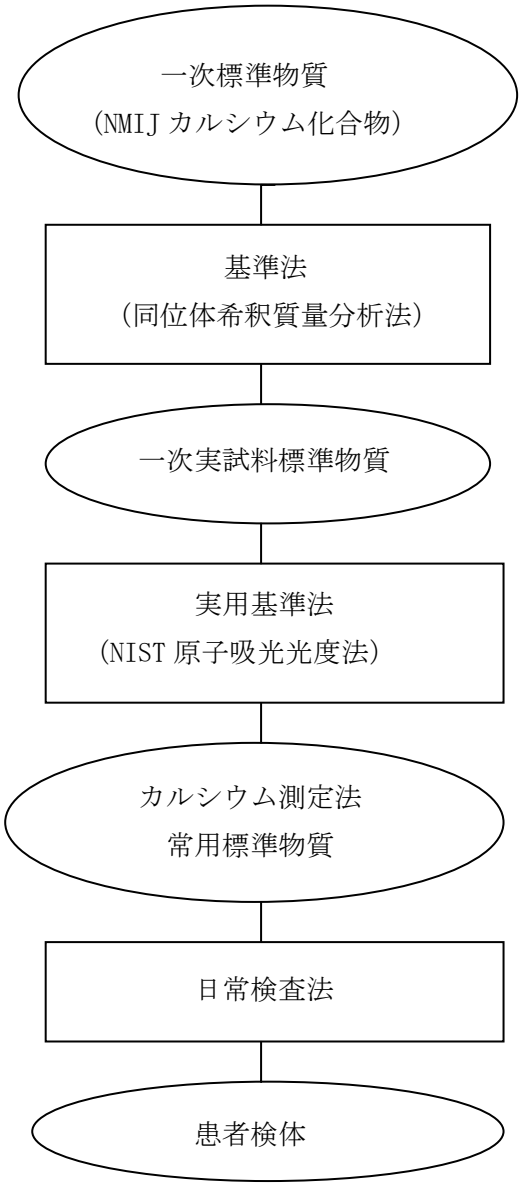


図１　カルシウムの測定体系

２．総カルシウム常用標準物質の規格

off-the-clot 分離血清を－70℃に保存したヒト血清を原料とし、濃度 1.5～3.5mmol/の範囲で 2 レベルとする。おおよその濃度範囲は以下の通りとする。

レベル１　　1.5 ～2.5 mmol/L

レベル２　　2.5～3.5　mmol/L

その他の項目としては、総タンパク、アルブミン、コレステロール、及び中性脂肪がいずれも基準範囲であり、密度は 1.022～1.025g/cm3(25℃)とする。

感染症項目については HBｓ抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出とする。

３．調製方法

総カルシウム濃度が 0.6～1mmol/L の範囲にあるヒト血清をブレンドし、血清ろ過器を用いてろ過後、2 分割する。

レベル１（中レベル）はそのままとし、0.6～1mmol/L の範囲であることを確認する。

レベル２（高レベル）は総カルシウム純品（NIST　SRM929a）を、濃度が 1～2mmol/L の範囲内となるように添加し、十分撹拌する.プラスチックバイアル瓶に分注し、フタを閉める。

４．認証値の測定方法

４－１．試薬

１）水

イオン交換法によって得られた比抵抗 10^6MΩ・ｃｍ以上の水であって、原子吸光光度法により Ca が検出限界以下であることを確認した水を用いる。すべての器具の洗浄には、この水を利用することとする。

２）Ca 標準液作製用 $CaCO_3$

NIST　SRM915b を用いる。

３）酸化ランタン（La_2O_3）

少なくとも Ca 含量 15μg/g 以下の製品を使用する。

４）NaCl 及び KCl

いずれも NaCl は NIST SRM919a を，KCl は NIST SRM918a を使用する。

５）塩酸

高純度試薬を使用する。

４－２．器具及び環境

１）ガラス器具

全量フラスコ、全量ピペットともに JIS K 0050（化学分析方法通則）により校正したものを用いる。ガラス器具の使用に際しては 1.0 mol/L の塩酸に一夜浸し、洗浄して使用する。

４－３．試薬の調製

１）保存盲検液（140 mM NaCl，5.0 mM KCl 溶液）

NaCl 8.18g 及び KCl 373mg を秤量して、1 リットルの全量フラスコに移し、水を加えて溶解し、溶解後水でメスアップする。

２）希釈液（10 mM LaCl3，50 mM HCl 溶液）

La_2O_3 1.63g を秤量して、1 リットルの全量フラスコに移し、精製水 10 ml 及び濃塩酸 6.7ml を加えて溶解し、完全に溶けてから水でメスアップする。

３）Ca 保存標準原液（2.00，2.50，3.00 mM Ca）

これらの標準液は 140 mM NaCl 及び 5.0 mM　KCl を含む。各々の 1 リットルの全量フ

ラスコに、NaCl が 140 mmol/l, KCl が 5.0 mmol/l となるように入れ、それぞれ、所定量の CaCo3 を秤量して加え、次に数 ml の精製水と 1 ml の濃塩酸を加えて溶解し、完全に溶解していることを確認した後、水でメスアップする。

４－４．測定用溶液及び標準液（50 倍希釈）

１）500ml の全量フラスコに希釈液約 450ml 入れ、10.00 ml の保存盲検液を全量ピペットを用いて加え、希釈液でメスアップする。

２）各々の 500ml の全量フラスコに希釈液約 450ml 入れ、それぞれの Ca 保存標準液の 10.00 ml を全量ピペットを用いて加え、希釈液でメスアップする。これが、検量用の Ca 標準液とする。

３）100ml の全量フラスコに希釈液約 80ml を入れ、血清試料 2.00ml を全量ピペットを用いて加えて以下の手順により希釈液でメスアップして空気―アセチレン原子吸光分析(波長 422.7)測定用溶液とする。

５．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質のプロトタイプについて、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

	レベル１	レベル２	
総カルシウム	9.56±0.10	11.63±0.13	mg/dl

１）不確かさは、ISO 指針（GUM：計測における不確かさの表現のガイド）に従って求め、拡張不確かさで表した。拡張不確かさは、測定の不確かさ、一次標準物質の不確かさ、及び試料調製の不確かさを合成し、それに包含係数 2.3 を乗じて求めた。

２）正確さのトレーサビリティの確保：表示値測定の標準液調製には、NIST SRM915ｂ（炭酸カルシウム）を用いた。表示値の測定における血清試料及び標準液の調製は、計量法校正事業者認定制度に基づく認定事業者により校正された天秤をもちいて行った。

６．性状の評価

（１）血清密度及び代表的成分

本常用標準血清の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	参 考 値	単 位	測 定 方 法
密　度	1.025（25℃）	g/cm^3	
総タンパク	7.3	g/dl	ビュレット法
アルブミン	4.4	g/dl	BCG 法
中性脂肪	53	mg/dl	酵 素 法
総コレステロール	138	mg/dl	酵 素 法
リン脂質	167	mg/dl	酵 素 法

（2）均質性及び安定性

1）均質性

本常用標準血清は室温で液状であり、分注後は凍結状態で保管される。保管までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。このことは ISO ガイド 34 に特記されている。ISO ガイド 34 によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することとした。すなわち、分注の最初、中間、及び最後の各グループから、それぞれバイアル容器を５本ずつ抜き取り、均質性試験を行った。その結果、最初、中間、最後の各グループの平均値も有意な差は見られず、均質であるといえる。

2）保存安定性

6、12 ヶ月間保存した標準血清の保存安定性試験の結果を以下に示した。これから 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

標準物質の Ca 濃度の安定性（保存前の日常法での Ca 測定値を 1.00 として）

保管条件	経過月数		
	0	6	12
凍結（-70℃）	1.00	1.00	1.00

（3）表示値の評価

本常用標準物質の総カルシウム表示値について、NIST SRM 909ｂ（Human Serum）との比較評価試験を行った。比較評価試験方法は JCTLM のドキュメント JCTLM　WG1　P-04A（Process for Comparing Certified Valued of the same Measurand in Multiple Reference Materials）に従った。この方法の概要を以下に示した。

評価しようとする標準物質と、比較のために選んだ標準物質との間の比較評価は、妥当な

測定法によって測定した値の 95%信頼区間 Xi±U_{95}（Xi）と、認証値の 95%信頼区間 Ci±U_{95}（Ci）との間の重なりの程度によって行う。認証値に対する測定値 Xi の、最小二乗法によって求めた回帰式 Xi=a+ b Ci からバイアスを求めた。ここで、測定値と認証値それぞれの信頼区間を図で表した場合、両者は濃度が必ずしも同一ではないので、わかりにくい。

そこで、認証値に対する測定値の比すなわち、Xi/Ci±U_{95}（Xi）/Ci 又は 1±U_{95}（Ci）/Ci をもって計算し図で表す方がわかりやすい。図に例を示したが、横軸は、評価を行った標準物質の種類を、縦軸はそれぞれの標準物質に対する測定値の平均値と認証値との比（Xi/Ci）とその測定の平均値の不確かさの範囲（95%）を示した。また、この範囲の上下横線は、補正認証値の 95%信頼区間を表わす。（補正認証値とは、総平均値を認証値とした）

試験方法は日本臨床化学会勧告法とした。その結果を図 2 に示した。これから、値のバイアスは 2%以内となっていた。

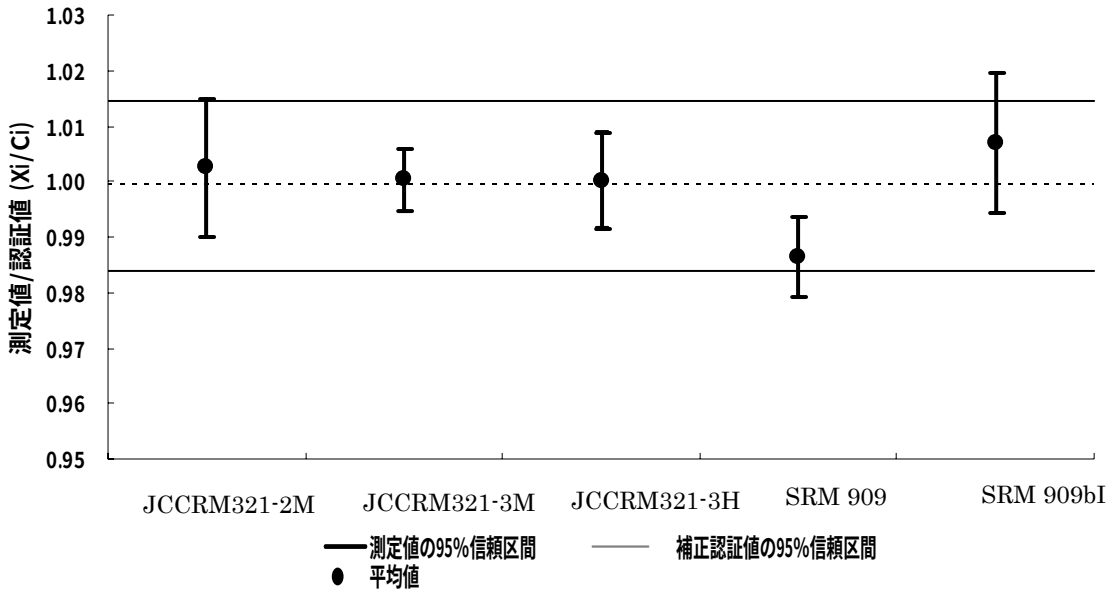


図２　比較評価試験結果

（4）コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は目的とする検体とマトリックスが同じでなければならない。しかし、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用しなければならないが、その場合、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体が混入したものを原料とした場合、またはその割合が多いものを原料とした場合、そのマトリックスは通常の検体と同じとはいえない。この場合、日常法による測定値を高位の一次標準物質にトレーサブルとすることはできない。トレーサビリティをとるためには、対

象とする測定法に対して、標準物質が通常の検体と性質が同じであることが示されれば、その実試料標準物質はコミュータビリティを有するといえる。

コミュータビリティの評価にはNCCLSのガイドラインを参考にすることとし、ガイドラインの基礎をなすPassing-Bablokの直線回帰式と残差プロットを用いてコミュータビリティを評価した（図３）。

図から、日常法の関係において、標準物質及び実試料の回帰式は同じであり、かつ標準物質のばらつきは、実試料のばらつきの95%信頼区間に入っていることから、本標準物質にはコミュータビリティがあるといえる。

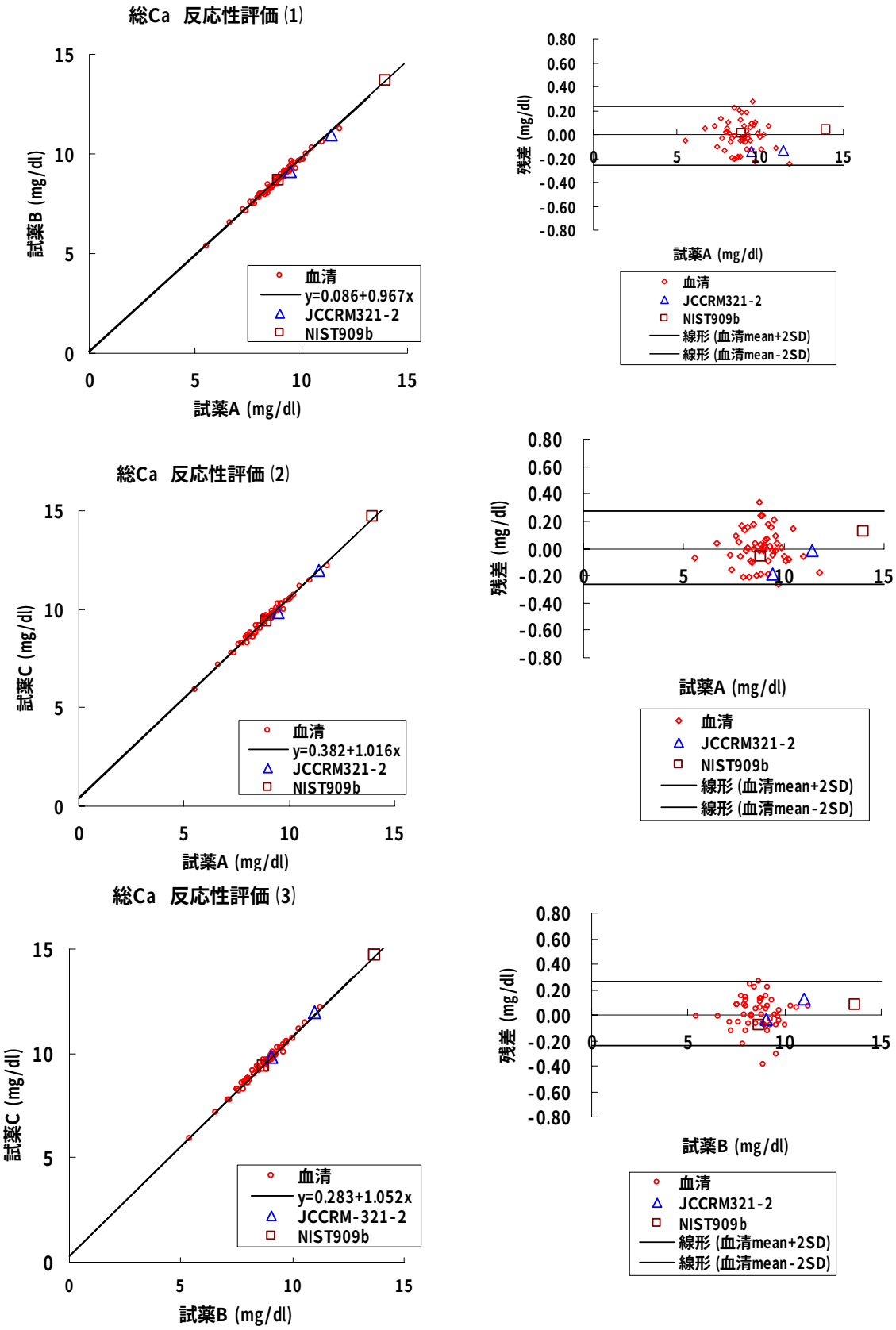

総Ca 反応性評価 (1)
試薬B (mg/dl)
試薬A (mg/dl)
血清
y=0.086+0.967x
JCCRM321-2
NIST909b
残差 (mg/dl)
線形 (血清mean+2SD)
線形 (血清mean-2SD)
総Ca 反応性評価 (2)
試薬C (mg/dl)
y=0.382+1.016x
総Ca 反応性評価 (3)
y=0.283+1.052x
JCCRM-321-2

図３　反応性評価結果

（５）日常検査試薬による血清総カルシウム濃度測定の精確さ評価

日常検査試薬による血清総カルシウム濃度測定の精確さ評価として、校正のトレーサビリティの差について解析した。

１）目的

外部精度評価(EQA)において、血清総カルシウム（Ca）測定値は、測定法間差があると報告されている。今回その原因が、校正のトレーサビリティによるものではないかと推定し、その解析実験を行うと共に、互換性維持のための方法を設定すること。

２）方法①検討試薬：ダイヤカラー・Ca、クリニメイト Ca カルシウム E-HR、アクアオートカイノス Ca の計 4 試薬キットを用いた。②測定装置：日立 7250 形自動分析装置を用いた。③精確さの評価：1）測定試料：（1）HECTEF SRC の電解質標準血清 JCCRM321-2(M=9.38mg/dl,H=11.40 mg/dl)、(2) NIST 909ｂ(レベル 1=8.94 mg/dl, レベル 2=14.19mg/dl)、(3) NIST 956ｂ(レベル 1=11.82mg/dl,レベル 2=9.844 mg/dl,レベル 3=7.911mg/dl)の計 7 濃度を用いた。2) 検討試薬：方法 1.の４試薬キットを用い、検量は (1) 各社の指定の方法、(2) HECTEF SRC の JCCRM321-2(H=11.40 mg/dl)でそれぞれ実施した。3) 評価方法：標準血清をそれぞれ 5 重測定し、相対バイアス B(%)、相対 Cm の大きさを算出した。4.反応性の評価 1) 測定試薬：(1) 対照試薬は暫定的に A)試薬キットを用いた。(2) 対象試薬は B),C),D)の 3 試薬キットを用いた。検量は各社の指定の方法で実施した。2) 測定試料：(1) 測定範囲全体の濃度値をカバーする外来・入院の患者血清 500 件。(2) 精確さの評価に用いた標準血清 7 濃度。3) 評価方法：対照試薬 (X)、評価試薬 (Y) とし、患者血清のみを測定した結果から、個々の Y の 95%信頼区間および相対残差(%)をそれぞれ算出した。

３）結果

検討結果の一部を表２に示した。市販試薬キットによる精確さは、(1) 各社の指定の方法で検量した時の相対バイアス(B)の平均値は-3.52～4.98%、(2)JCCRM321-2(H) で検量した時の相対バイアス(B)の平均値は-0.68～0.40%であった。

４）考察

各社指定の検量方法により、標準血清の総 Ca 濃度値は約 5%の差が生じたのは、校正のトレーサビリティの差によることが確認できた。HECTRF SRC の標準血清を校正基準とすることで、測定法間差を 2%程度に留めることが可能である。

表２　精確さの評価と反応性の評価結果

評価方法	相対バイアスB（%）							
測定試薬	A)		B)		C)		D)	
検量方法	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
JCCRM321-2M	4.50	-0.64	0.79	1.64	-3.18	0.04	4.82	0.64
JCCRM321-2H	4.91	-0.49	0.09	0.95	-3.67	-0.46	3.46	-0.88
NIST909b (1)	4.56	-2.15	-0.58	-1.07	-2.75	-1.43	5.91	-0.34
NIST909b (2)	3.78	0.65	-1.40	-0.61	-3.75	-0.66	2.20	-1.66
NIST956b (1)	6.19	-	0.30	-	-2.72	-	3.76	-
NIST956b (2)	3.86	2.80	-1.32	1.13	-3.9	-0.09	3.90	-0.50
NIST956b (3)	7.09	1.97	-1.81	-2.08	-4.66	-2.16	6.21	-0.05
平均値	4.98	0.31	-0.56	-0.01	-3.52	-0.68	4.32	0.40

検量方法：(1) 各社の指定の方法、(2) HECTEF SRC の JCCRM321-2

７．結論

トレーサビリティの体系に含まれるカルシウム測定用常用標準物質の確立について検討を行った。表示値の測定方法としては、NIST の実用基準法を採用したが、得られた表示値は、NIST の SRM909b と十分比較しうる正確さを有していた。また、その不確かさには、常用標準物質として十分小さい不確かさを得ることが出来た。

本常用標準物質は、出来る限り検体に類似したものとするため、血清の凍結品とし、防腐剤、安定剤を加えず、代わりに滅菌ろ過を行い、溶解後の安定性及び保存安定性を得ている。以上のように、日常測定法の正確さを評価することの出来るカルシウム測定用常用標準物質が確立できた。

文献

1) Umemoto M, Tani *W, Kuw*a K, Ujihara Y: Measuring calcium in plasma, Anal Chem 66:352A-356A, 1994

2）谷　渉、梅本　雅夫、桑　克彦：電解質金属イオン測定用実施量標準物質の設定、臨床化学 28（Supp.1）:43a-44a, 1999

3) A reference method for the determination of calcium in serum, NBS Special Publication 260-36, 1972

4）日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会：イオン電極法による血液ナトリウム、カリウム塩素濃度測定の勧告法－標準血清による正確さの校正方法、臨床化学 22:279-290, 1993

5) Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed.,ISO,Ceneva,Switzerland, 1995

6) NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guidelines. Document EP9-A(ISBN 1-56238-283-7) 1995 NCCLS, Wayne, PA.

7）Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20, 1984;22:431-45

２－２－３－７　総マグネシウム

本総マグネシウム測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会（現 POCT 専門委員会）による性能規格および測定手順のプロトコルにしたがって HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。また、日常検査法でのコミュータビリティの試験は、日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会委員およびその協力施設により行った。

要旨

１）本総マグシウム測定用常用標準物質のプロトタイプの作製と、プロトタイプについて日常検査法でのコミュータビリティ試験を行なった。

２）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

３）濃度レベルは２濃度とした。調製した試料について均質性と安定性を調べた。その結果、各グループの平均値には有意な差は見られなかった。また、保存安定性試験では 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

４）表示値は、NIST 原子吸光光度法にて行い、併せて不確かを算出した。

５）得られた表示値についての妥当性の評価は、JCTLM による比較評価試験方法に従って行った。その結果、バイアスは２％以内となった。

６）コミュータビリティの評価は、NCCLS のガイドラインにより行った。さらに Passing-Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いて評価した。その結果、標準物質のプロトタイプ及び実試料の回帰式は同一であり、かつ標準物質のプロトタイプのばらつきは、実試料のばらつきの 95%信頼区間に入っていることから、本標準物質のプロトタイプのコミュータビリティが確認できた。

１．序文

マグネシウムは、金属元素の中では Na, K, Ca に次いで多い元素である。血清中のマグネシウムは 30%が蛋白と結合し、15%が塩となり、残りはマグネシウムイオンとして存在している。高マグネシウム血症では、嘔吐、食欲不振、徐脈、起立性低血圧などの症状が現れる。生体内のマグネシウム調節には腎が重要な役割を演じており、腎障害があれば、高マグネシウム血症となる。20mmol/l 以上となると心停止を招くことがある。低マグネシウム血症では不整脈、頻脈、筋力低下などが症状として現れるが、心臓血管障害が誘発されることが問題として指摘されている。マグネシウムが欠乏すると低カルシウム血症、低リン血症、低カリウム血症などの電解質異常を合併する。血清中マグネシウムの測定の重要性は以上のごとくであり、そのトレーサビリティ体系の確立が急務となっている。

マグネシウム測定のトレーサビリティ体系においては純物質としてのマグネシウム一次標準物質と、血清マトリックスを有し、基準法である同位体希釈質量分析法により値決めされた一次実試料標準物質が確立され、次に実用基準法である原子吸光光度法により値決めされ、一次実試

料標準物質によりトレーサビリティの確認されたマグネシウム常用標準物質が確立される必要がある。その体系を図１に示す。

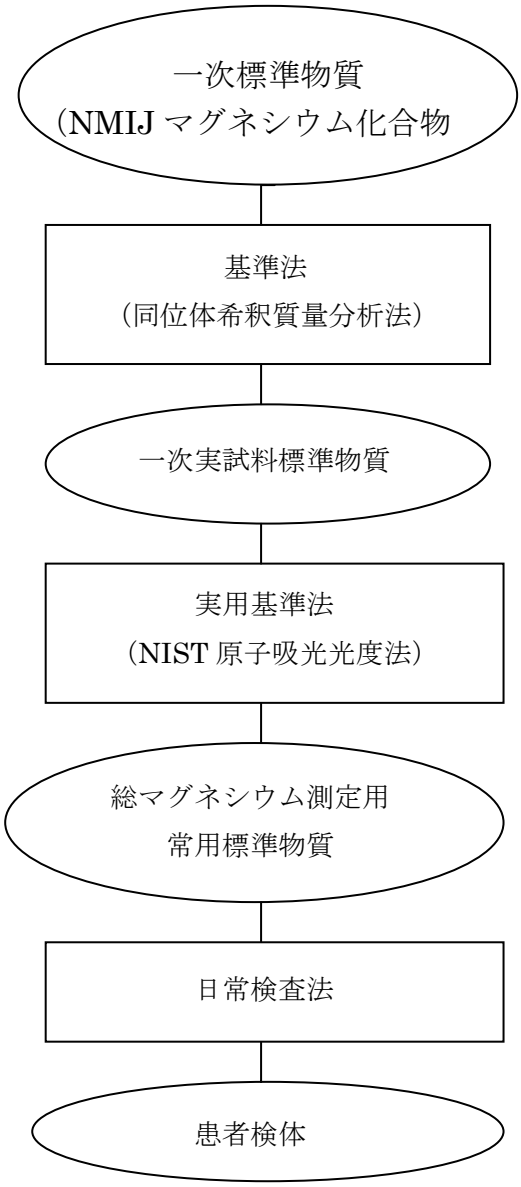


図１　マグネシウムの測定体系

２．総マグネシウム常用標準物質の規格

off-the-clot 分離血清を－70℃に保存した血清を原料とし、濃度 は 0.6～2mmol/L の範囲で 2 レベルとする。おおよその濃度範囲は以下の通りとする。

レベル１　　0.6 ～1 mmol/L

レベル２　　１～2　mmol/L

その他の項目としては、総タンパク、アルブミン、コレステロール、及び中性脂肪がいずれも基準範囲であり,密度は 1.022～1.025g/cm3(25℃)とする。
感染症項目については　　HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出とする。

３．調整方法

総マグネシウム濃度が 0.6～1mmol/L の範囲にあるヒト血清をブレンドし、血清ろ過器を用いてろ過後、2 分割する。

レベル１（中レベル）はそのままとし、0.6～1mmol/L の範囲であることを確認する。

レベル２（高レベル）は総マグネシウム純品（NIST　SRM929）を濃度範囲が 1～2mmol/L になるように添加し、十分撹拌する。

プラスチックバイアル瓶に分注し、フタを閉める。

４．認証値の測定方法

（１）試薬

１）水

イオン交換法によって得られた比抵抗 10^6MΩ・ｃｍ以上の水であって、原子吸光光度法により Mg が検出限界以下であることを確認した水を用いる。

すべての器具の洗浄には、この水を利用することとする。

２）Mg 標準液用無水グルコン酸マグネシウム

NIST　SRM929a を用いる。

３）酸化ランタン（La_2O_3）

少なくとも Mg 含量 15μg/g 以下の製品を使用する。

４）NaCl, KCl

NaCl は NIST SRM919a, KCl は NIST SRM918a を使用する。

５）塩酸

高純度試薬を使用する。

（２）器具及び環境

１）ガラス器具

全量フラスコ、全量ピペットともに JIS K 0050（化学分析方法通則）により校正したものとする。ガラス器具の使用に際しては 1.0 mol/L の塩酸に一夜浸し、洗浄して使用する。

（３）試薬の調製

１）保存盲検液（140 mM NaCl, 5.0 mM KCl 溶液）

NaCl 8.18g 及び KCl 373mg を秤量して、1 リットルの全量フラスコに移し、水を加えて溶解し、溶解後水でメスアップする。

２）希釈液（10 mM $LaCl_3$, 50 mM HCl 溶液）

La_2O_3 1.63g を秤量して、1 リットルの全量フラスコに移し、精製水 10 ml 及び濃塩酸 6.7ml を加えて溶解し、完全に溶けてから水でメスアップする。

3）Mg 保存標準原液（2.00, 2.50, 3.00 mM Ca）

これらの標準液は 140 mM NaCl 及び 5.0 ｍM KCl を含む。各々の 1 リットルの全量フラスコに、NaCl 140 mmol/l, KCl 5.0 mmol/l となるように入れ、それぞれ所定量の無水グルコン酸マグネシウムを秤量して加え、次に数 ml の精製水と 1 ml の濃塩酸を加えて溶解し、完全に溶解していることを確認した後、水でメスアップする。

（4）測定用溶液及び標準液（100 倍希釈）

1）500ml の全量フラスコに希釈液約 450ml 入れ、5.00 ml の保存盲検液を全量ピペットを用いて加え、希釈液でメスアップする。

2）各々の 500ml の全量フラスコに希釈液約 450ml 入れ、それぞれの Mg 保存標準液の 5.00 ml を全量ピペットを用いて加え、希釈液でメスアップする。これを検量用の Mg 標準液とする。

3）200ml の全量フラスコに希釈液約 180ml を入れ、血清試料 2.00ml を全量ピペットを用いて加え、希釈液でメスアップして空気―アセチレン原子吸光分析(波長 285.2nm)の測定用溶液とする。

5．表示値及び不確かさ

今回調整した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

(mg/dl)	レベル 1	レベル 2
マグネシウム濃度	2.02±0.02	3.83±0.04

1）不確かさは、ISO 指針（GUM：計測における不確かさの表現のガイド）に従って求め、拡張不確かさで表した。拡張不確かさは、測定の不確かさ、及び試料調製の不確かさを合成し、それに包含係数 2.1 を乗じて求めた。

2）正確さのトレーサビリティの確保：表示値測定の標準液調整には、NIST　SRM929（無水グルコン酸マグネシウム）を用いた。表示値の測定における血清試料及び標準液の調製は、計量法校正事業者認定制度に基づく認定事業者により校正された天秤を用いて行った。

6．性状の評価

（1）血清密度及び代表的成分

本常用標準血清の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	参 考 値	単 位	測 定 方 法
密　度	1.025 (25℃)	g/cm^3	
総タンパク	7.3	g/dl	ビュレット法
アルブミン	4.4	g/dl	BCG 法
中性脂肪	53	mg/dl	酵 素 法
総コレステロール	138	mg/dl	酵 素 法
リン脂質	167	mg/dl	酵 素 法

（2）均質性及び安定性

1）均質性

本常用標準血清は室温で液状であり、分注後は凍結状態で保管される。保管までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。このことは ISO ガイド 34 に特記されている。ガイド 34 によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することとした。すなわち、分注の最初、中間、及び最後の各グループから、それぞれバイアル容器を５本ずつ抜き取り、均質性試験を行った。その結果、最初、中間、最後の各グループの平均値も有意な差（95%信頼区間）は見られず、均質であるといえる。

2）保存安定性

6、12 ヶ月間保存した標準血清の保存安定性試験の結果を以下に示す。これから 1 ヵ年は安定であった。－20℃で保存した場合は、濁りを生じたため、－70℃で保存した。

標準物質の Mg 濃度の安定性（保存前の日常法での Mg 測定値を 1.00 として）

保管条件	経過月数		
	0	6	12
凍結（-70℃）	1.00	1.00	1.00

（3）表示値の評価

本常用標準物質の総マグネシウム表示値について、NIST SRM909ｂ（Human Serum）との比較評価試験を行った。比較評価試験方法は JCTLM のドキュメント JCTLM　WG1 P-04A（Process for Comparing Certified Valued of the same Measurand in Multiple Reference Materials）に従った。この方法の概要を以下に示した。

評価しようとする標準物質と、比較のために選んだ標準物質との間の比較評価は、妥当な測定法によって測定した値の 95%信頼区間 Xi±U_{95}（Xi）と、認証値の 95%信頼区間

Ci±U_{95}（Ci）との間の重なりの程度によって行う。認証値に対する測定値 Xi の、最小二乗法によって求めた回帰式 Xi=a+ b Ci からバイアスを求めた。ここで、測定値と認証値それぞれの信頼区間を図で表した場合、両者は濃度が必ずしも同一ではないので、わかりにくい。そこで、認証値に対する測定値の比すなわち、Xi/Ci±U_{95}（Xi）/Ci 又は 1±U_{95}（Ci）/Ci をもって計算し図で表す方がわかりやすい。図に例を示したが、横軸は、評価を行った標準物質の種類を、縦軸はそれぞれの標準物質に対する測定値の平均値と認証値との比（Xi/Ci）とその測定の平均値の不確かさの範囲（95%）を示した。また、この範囲の上下横線は、補正認証値の 95%信頼区間を表わす。（補正認証値とは、総平均値を認証値とした）

試験方法は日本臨床化学会勧告法とした。その結果を図 2 に示した。これから、値のバイアスは 2%以内となっていた。

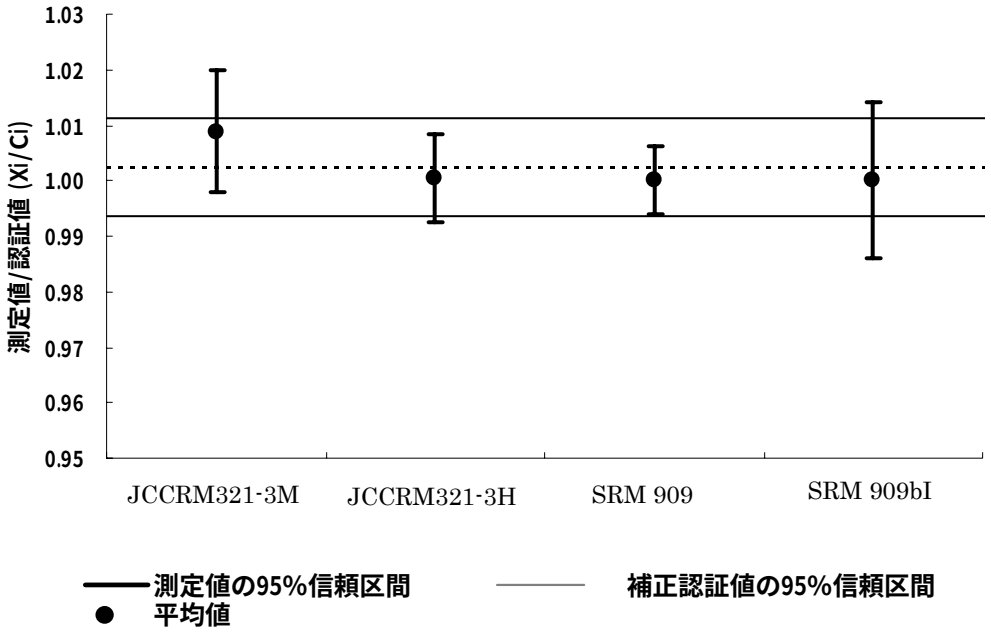


図２　比較評価試験結果

（4）コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は目的とする検体とマトリックスが同じでなければならない。しかし、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用しなければならないが、その場合、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体が混入したものを原料とした場合、又はその割合が多いものを原料とした場合、そのマトリックスは通常の検体と同じとはいえない。この場合、日常法による測定値を高位の一次標準物質にトレーサブルとすることはできない。トレーサビリティをとるためには、対象とする測定法に対して、標準物質が通常の検体と性質が同じであることが示されれば、その実試料標準物質はコミュータビリティを有するといえる。

コミュータビリティの評価にはNCCLSのガイドラインを参考にすることとし、ガイドラインの基礎をなすPassing – Bablokの直線回帰式と残差プロットを用いてコミュータビリティを評価した（図３）。

図から、日常法との関係において、標準物質と実試料の回帰式は同じでありかつ標準物質のばらつきは、実試料のばらつきの95%信頼区間に入っていることから、本標準物質にはコミュータビリティがあるといえる。

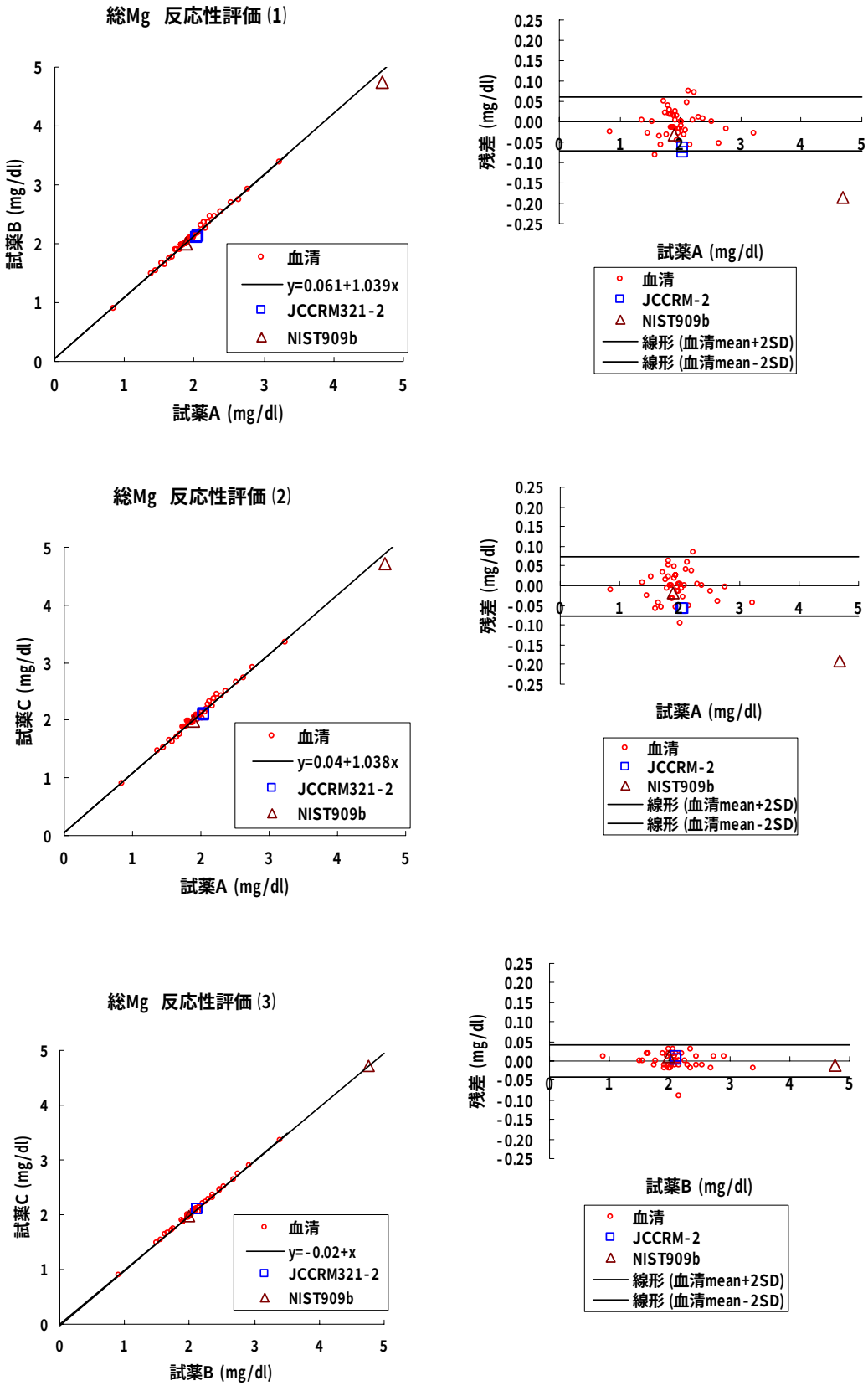

総Mg 反応性評価 (1)
試薬B (mg/dl)
試薬A (mg/dl)
血清
y=0.061+1.039x
JCCRM321-2
NIST909b
残差 (mg/dl)
試薬A (mg/dl)
血清
JCCRM-2
NIST909b
線形 (血清mean+2SD)
線形 (血清mean-2SD)
総Mg 反応性評価 (2)
試薬C (mg/dl)
試薬A (mg/dl)
血清
y=0.04+1.038x
JCCRM321-2
NIST909b
残差 (mg/dl)
試薬A (mg/dl)
血清
JCCRM-2
NIST909b
線形 (血清mean+2SD)
線形 (血清mean-2SD)
総Mg 反応性評価 (3)
試薬C (mg/dl)
試薬B (mg/dl)
血清
y=-0.02+x
JCCRM321-2
NIST909b
残差 (mg/dl)
試薬B (mg/dl)
血清
JCCRM-2
NIST909b
線形 (血清mean+2SD)
線形 (血清mean-2SD)

図３　反応性評結果

（５）血清総マグネシウム濃度測定の日常検査での校正効果

血清総マグネシウム濃度測定の日常検査での校正効果について検討した。

１）目的

血清マグネシウム（Mg）濃度測定値の施設間是正を目的として、電解質標準血清（HECTEF SRC）および血清標準物質（NIST）を用いて、各試薬キット間のデータを校正したときの校正効果を確認すること。

２）方法

①検討試薬は 1)Mg 試薬・L-S「ｺｸｻｲ」、2) ﾀﾞｲﾔｶﾗｰ・Mg 酵素試薬、3) ﾈｽｺｰﾄ Mg－V2、4) L ﾀｲﾌﾟ ﾜｺｰ Mg、5) ﾃﾞﾀﾐﾅｰ L Mg、6) N-ｱｯｾｲ L Mg-H ﾆｯﾄｰﾎﾞｰ、7) ｱｸｱｵｰﾄ ｶｲﾉｽ Mg の計 7 社 7 試薬キットを用いた。②測定試料：1) 患者血清：透析患者における患者血清と健康診断の受診者の計 358 件を用いた。2)血清標準物質：電解質標準血清 JCCRM321-2M、H（HECTEF SRC）、NIST SRM 909b1、2 の計 4 種類を用いた。③測定条件：1) 分析装置は日立 7180 形自動分析装置を用い、ダイアグラムは各社指定の方法に従った。検量は、JCCRM 321-2H（HECTEF SRC）と SRM 909b2（NIST）のそれぞれを用いて実施した。④解析方法：1）血清混合比系列：まず、低濃度域（約 0.7mg/dl）高濃度域（約 11mg/dl）のプール血清を用いて、11 段階の希釈系列を作成し、それぞれを 2 重測定した。次いで、測定値と計算値の差を算出し、差の相対値(%)を求めた。2) 精密さの評価：透析患者血清 50 件によるランダマイズ 2 回測定を行い、分散分析による標準偏差の期待値（σ ^）を求めた。3)精確さの評価：7 試薬キットを用いて、4 種類の標準血清を 5 重測定し、バイアス(B)、不確かさの大きさ(Cm)をそれぞれ算出した。 4)相関性の評価：(1) 358 件の患者血清を用いて、JCCRM 321-2H 校正、SRM 909b2 校正による測定値を比較し、試薬キットごとに相関分析を行い、相関係数(r)、回帰式をそれぞれ算出した。なお X 軸は、暫定的に Mg 試薬・L-S「ｺｸｻｲ」の測定値とした。

３）結果

①血清混合比系列：差の相対値が±5%以内を比例性の範囲とすると、HECTE SRC 校正、NIST 校正共に、ﾈｽｺｰﾄ Mg－V2 は 6.0mg/dl，その他の試薬キットは 11.0mg/dl まで比例性が確認できた。②精密さの評価：1) JCCRM 321-2H 校正による σ ^ の範囲は 0.011～0.041mg/dl であった。2) SRM 909b2 校正による σ ^ の範囲は 0.010～0.093mg/dl であった。③精確さの評価：1)HECTEF SRC 校正での Cm の範囲は、(1)JCCRM 321-2M は－0.10～0.05mg/dl、(2) JCCRM 321-2H は－0.11～0.04mg/dl、(3)SRM 909b1 は－0.06～0.09mg/dl、(4)SRM 909b2 では－0.33～0.25mg/dl であった。2)NIST 校正での Cm の範囲は、(1)JCCRM 321-2M は－0.09～0.22mg/dl、(2)JCCRM 321-2H は－0.09～0.20mg/dl、(3) SRM 909b1 は－0.04～0.27mg/dl、(4)SRM 909b2 では－0.04～0.27mg/dl であった。④相関分析：HECTEF SRC 校正による測定値の比較では、相関係数（r）の範囲は 0.94～0.99、傾き（b）の範囲は 0.93～1.04 であった。NIST 校正による測定値の比較では、相関係数（r）の範囲は 0.63～0.98、傾き（b）の範囲は 0.93～0.99 であった。

HECTEF SRC、NIST の標準血清を用いて、各試薬キット間のデータを校正したときの校正効果が

確認できた。このうち校正は HECTEF SRC の方が実用的であった。

７.結論

トレーサビリティの体系に含まれるマグネシウム測定用常用標準物質の確立について検討を行った。表示値の測定方法としては、NIST の実用基準法を採用したが、得られた表示値は、NIST の SRM909b と十分比較しうる正確さを有していた。また、その不確かさには、常用標準物質として十分小さい不確かさを得ることが出来た。

本常用標準物質は、出来る限り検体に類似したものとするため、血清の凍結品とし、防腐剤、安定剤を加えず、代わりに滅菌ろ過を行い、溶解後の安定性及び保存安定性を得ている。以上のように、日常測定法の正確さを評価することの出来るマグネシウム測定用常用標準物質が確立できた。

文献

1) Umemoto M, Tani W, Kuwa K, Ujihara Y: Measuring calcium in plasma, Anal Chem 66:352A-356A, 1994

2) 谷　渉、梅本　雅夫、桑　克彦：電解質金属イオン測定用実施量標準物質の設定、臨床化学 28（Supp.1）:43a-44a, 1999

3) A reference method for the determination of calcium in serum, NBS Special Publication 260-36, 1972

4) 日本臨床化学会血液ガス・電解質専門委員会：イオン電極法による血液ナトリウム、カリウム塩素濃度測定の勧告法－標準血清による正確さの校正方法、臨床化学 22:279-290, 1993

5) Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISBN 92-67-10188-9, 1st Ed.,ISO,Ceneva,Switzerland, 1995

6） NCCLS. Method comparison and bias estimation using patient samples; approved guidelines. Document EP9-A(ISBN 1-56238-283-7) 1995 NCCLS,　Wayne, PA.

7） Passing H, Bablok W, J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709-20, 1984;22:431-45

2-2-3-8　血清鉄

本血清鉄測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。

要旨
1）本血清鉄測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製を行った
2）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。
3）濃度レベルは２濃度とした。値付けには ICSH による国際標準法によった。併せて不確かさを算出した。
4）今後は、均質性、安定性、表示値の評価およびコミュータビリティについて実施する。

１．序文

血清鉄は、健常人においては 100μg/dl 程度であるが、鉄欠乏症ではいちじるしく低下する。逆に、再生不良性貧血、悪性貧血、溶血性貧血などでは 400μg/dl までに上昇することがある。また、炎症、腫瘍などでは低下し、黄疸のうち肝細胞性黄疸では上昇し、閉塞性黄疸では逆に低下する。このように、血清鉄の測定は、血液疾患、及び肝臓疾患の診断に欠くべからざるものである。

測定法としては、松原法がかつては広く用いられ、ICSH 国際標準法の基礎となっている。これは、血清に塩酸を加えて加熱後、トリクロル酢酸で除タンパクし、鉄をトランスフェリンから遊離させた後、2 価に還元して o-フェナントロリンで発色させ、比色定量するものである。現在では、優れたキレート発色剤が開発され、除タンパク不要で、短時間で測定可能な直接法が主流となっている。しかし、血清鉄はトランスフェリンと結合しており、直接法において完全に鉄が遊離しているか否かを確認する方法がないこと、また、松原法において、除タンパク操作と容積置換に由来する系統誤差の問題点などが未解決のまま放置されているため、トレーサビリティの保証された血清鉄標準物質の確立と供給が強く求められている。

本研究においては、松原法及び ICSH の国際標準法を基礎とする実用基準法により値決めされた血清鉄常用標準物質を確立した。その測定体系を図１に示した。

２．血清鉄常用標準物質の規格・調製

２－１　off-the-clot により得られた血清を－70℃に保存したものを原料とし、濃度は 9～40μmol/L の範囲で 2 レベルとする。おおよその濃度範囲は以下の通りである。

レベル１：9　～13　μmol/L

レベル２：30　～40　μmol/L

密度は 1.022～1.025g/cm3 (25℃)とした

総タンパク、アルブミン、コレステロール、中性脂肪はいずれも基準範囲内のものとする。

アスコルビン酸は 0.2μg/ml 以下とする

感染性については HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出のものとする。

２－２　調製本数

2ml のプラスチックバイアル瓶に、調製した試料を１ｍｌずつ充填する。

２－３　調製方法

血清鉄濃として 9～13μmol/L の範囲内であるヒト血清をブレンドし、血清ろ過器を用いてろ過してレベル１とする。又、これに塩化第 2 鉄（試薬グレード）を 30～40μmol/L となるように添加して、十分に撹拌してレベル２とする。

2ml プラスチックバイアル瓶に 1ｍｌずつ分注し、フタを閉める。鉄の汚染があってはならないので、器具等からの混入に十分注意する。

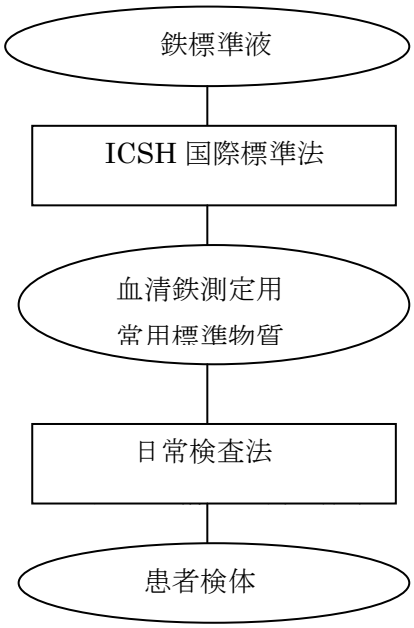


図 1.血清鉄の測定体系

３．認証値の測定方法

３－１　試薬

（１）水

イオン交換樹脂で精製、またはガラス製の蒸留器で再蒸留した水で、原子吸光光度法により鉄の濃度が検出限界以下のものを用いる。

（２）塩酸（１N）

自分で蒸留した定沸点塩酸を H_2O で 6 倍に薄めたものを用いる。

（３）トリクロル酢酸溶液（20g/dl）

トリクロル酢酸（特級）を H_2O に溶かす。

（４）アスコルビン酸溶液

用に臨み H_2O 20ml にアスコルビン酸結晶末約 5mg（耳かき１杯）を溶かす。

（５）酢酸ナトリウム溶液（30g/dl）

$CH_3COONa \cdot 3H_2O$(特級)を H_2O に溶かした。これを発色剤の溶媒とする。

（６）*o*–フェナントロリン溶液（30mg/dl）、発色剤

o –フェナントロリンフェナントロリン 30mg を酢酸ナトリウム溶液（30g/dl）100ml に溶かして、ろ紙でろ過してかっ色びんに保存する。

（７）鉄標準液（200μg/dl）

第一化学標準鉄液（1mg/ml）から作る。薄める H_2O に蒸留 HCL を 0.01N 以上の濃度になるよう含ませておくと 6 箇月は保てる。

３－２　操作

（１）鉄の遊離

血清 2.0ml に HCL（1N）1.0ml を加え、振り混ぜて混和し、温浴（95～80℃）に約 2 分つけるとタンパク質が乳濁してやわらかい寒天のようになる。

（２）除タンパク

トリクロル酢酸溶液（20g/dl）1.0ml を加え、かき混ぜ棒でタンパク質塊を細かく砕く。遠心沈殿して透明な上澄みを分離し、ゴム帽つきメスピペットで 2.0ml を採取する。

（３）空試験液と標準液の用意

H_2O 1.0ml（B_1, B_2, B_3 3 本調製）および鉄標準液（200μg/dl）1.0ml（C_1, C_2, C_3 3 本調製）のそれぞれに HCL（1N）0.5ml、トリクロル酢酸（20g/dl）を加える。

（４）還元と発色

S, B_1, B_2, B_3, C_1, C_2, C_3 それぞれにアスコルビン酸溶液 1.0ml を加えて振とう混和後、発色剤 1.0ml を加えて撹拌混和する。

（５）比色

フィルター510mμ、青緑色を用い、水を対照として光電比色する。B、C それぞれ 3 本の平均値を直線で結んで検量線とし、これから S の値を読取る。

４．表示値及び不確かさ

今回調製した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

	レベル1	レベル2	
血清鉄	61.5 ± 1.5	185.7 ± 3.0	μg/dl

1)不確かさは ISO 指針（GUM：計測における不確かさの表現のガイド）に従って拡張不確かさ(U,95%信頼水準)で表わしたもので、合成標準不確かさ（Uc）と包含係数（k＝2.0）より U=k・Uc の式で求めた。ここで、Uc は測定の誤差要因（測定の繰り返し及び再現性、標準液、試料調製、容積置換分の補正、銅の干渉分の補正）のそれぞれの標準不確かさを合成したものである。

2)正確さのトレーサビリティの確保：表示値測定の標準液調製には、JCSS の鉄二次標準液を用いた。

５．性状の評価

（１）血清密度及び代表的成分

本常用標準物質の密度及び代表的成分について測定した結果を以下に示す。

項　目	参 考 値	単 位	測 定 方 法
密　度	1.025 (25℃)	g/cm^3	
粘性率	1.6 (20℃)	mPa･s	
水分量	0.930 (25℃)	kg/l	
Li	0.1 以下	mmol/l	フレーム光度法
NH_4^+	0.3	mmol/l	除タンパク比色法
無機リン	3.8	mg/dl	比 色 法
総タンパク	7.3	g/dl	ビュレット法
アルブミン	4.5	g/dl	BCG 法
中性脂肪	111	mg/dl	酵 素 法
総コレステロール	184	mg/dl	酵 素 法
リン脂質	210	mg/dl	酵 素 法

今後は、均質性、安定性、表示値の評価およびコミュータビリティについて実施する。

6. 均質性及び安定性

（１）均質性

本常用標準血清は室温で液状であり、分注後アンプル封入され、凍結状態で保管される。分注までは液状であるため、物理的には均質のはずである。しかし不十分な混合、容器の汚染、水分の蒸発等により、不測の問題が発生して均質でないことが起こりうる。また、アンプル充填時の不測の原因により、アンプル充填したあるグループが不均質となることがある。ガイド３４によれば均質性試験におけるサンプリングは、このような例では、系統サンプリングが適するとしてある。そこで、本常用標準物質においては、系統サンプリングを採用することとした。すなわち、アンプルの最初、中間、及び最後の各グループから、それぞれバイアル容器を５本づつ抜き取り、

均質性試験を行う。

（２）保存安定性

ISO ガイド 34 によれば､安定性試験は十分な均質性が実証された後で実施されなければならない。上記のように、均質性については十分といえるので安定性試験を行うこととした。安定性試験は２つに分類される。本常用標準物質は溶解後使用されるが、それが少なくとも常温で１時間は安定であるか否かという溶解後の安定性と、もう１つは保管安定性である。前者については、溶解直後、１時間後、及び、２時間後の試料を同時に精密な測定法で測定し、差を比較する方法によった。試料はそれぞれ５本とした。その結果、溶解直後を基準とし、1 時間後及び２時間後の変化を求める。

次に、保存安定性試験を行う。本常用標準血清は防腐剤を加えてないが、冷凍状態で保管されるので冷蔵品又は凍結乾燥品と比較して保存安定性に優れている。また、血清鉄の場合、しかし、血清鉄の場合、経験的に-70℃以下で保存すれば長期間安定であることがわかっている。

（３）表示値の評価

評価対象の標準物質が他にないため、暫定的に参照試料を選択して行う。

７．コミュータビリティ

一般に実試料標準物質は､目的とする検体とマトリックスが同じでなければならない。しかし、標準物質に長期間の保存安定性をもたせる場合、全血のように非常に壊れやすいものは、例えば溶血させたヘモグロビン溶液で代用しなければならないが、その場合、検体とマトリックスが同じでないことが生じる。また、検体とマトリックスが同じであったとしても、異常検体を原料としたもの又はその割合が多いものを原料とした場合、そのマトリックスは通常の検体と同じとはいえない。この場合、日常法による測定値を高位の一次標準物質にトレーサブルとすることはできない。トレーサビリティをとるためには、対象とする測定法に対して、標準物質が通常の検体と性質が同じであることが示されれば、その実試料標準物質はコミュータビリティを有するといえる。

コミュータビリティの評価には NCCLS のガイドラインを参考にすることとし、ガイドラインの基礎をなす Passing – Bablok の直線回帰式と残差プロットを用いてコミュータビリティを評価する。

２－２－３－９　尿素窒素

本尿素窒素測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製については、HECTEF スタンダードレファレンスセンターが行った。

要旨

１）本尿素窒素測定用常用標準物質についてのプロトタイプの作製を行った

２）常用標準物質のプロトタイプについては、用いる血清の性状規格、調製方法、表示値の決定方法、不確かさの算出について設定した。

３）濃度レベルは２濃度とした。値付けには ICSH による国際標準法によった。併せて不確かさを算出した。

４）今後は、均質性、安定性、表示値の評価およびコミュータビリティについて実施する。

１．序文

血中尿素窒素の増加は、一般的には腎疾患あるいは尿路閉塞などが原因となり、一方、減少は急性肝不全を伴った条件において見られる。

血清の尿素窒素の基準範囲としては種々提案されているが、上限はいずれも 20mg/dl である。ただし、急性腎炎では 25～160mg/dl に上昇する。血中尿素窒素濃度は 9 以下、21～30（軽度上昇）、30～60（中等度上昇）、60mg/dl 以上（高度上昇）のようにレベル分けしてそれぞれ診断に利用されるので、正確な測定が必要とされる。従って、尿素窒素のトレーサビリティ体系の確立が重要であり、本研究はその体系において重要な役割を担う標準物質の確立を目的に行われた。

尿素窒素測定のトレーサビリティ体系においては、純物質としての尿素一次標準物質（凝固点降下熱量分析法により純度の確定したもの）と、血清マトリックスを有し、基準法である同位体希釈質量分析法により値決めされた一次実試料標準物質が確立され、次に、実用基準法により値決めされ、尿素窒素測定用一次実試料標準物質によりトレーサビリティの確認された尿素窒素測定用常用標準物質が確立される必要がある。その体系を図１に示した。

本尿素窒素測定用常用標準物質の表示値は、常用基準法であるアメリカ臨床化学会レファレンス法により求めることとした。これは、血清を除タンパク後、血清上清に測定試薬であるウレアーゼ/GLD 酵素液を加え、生成した NADH による吸光度変化を測定し、検量線から血中窒素濃度を求めるものであり、同位体希釈質量分析法との相関において良好な結果が得られる。

尿素窒素測定の測定体系を図１に示す。

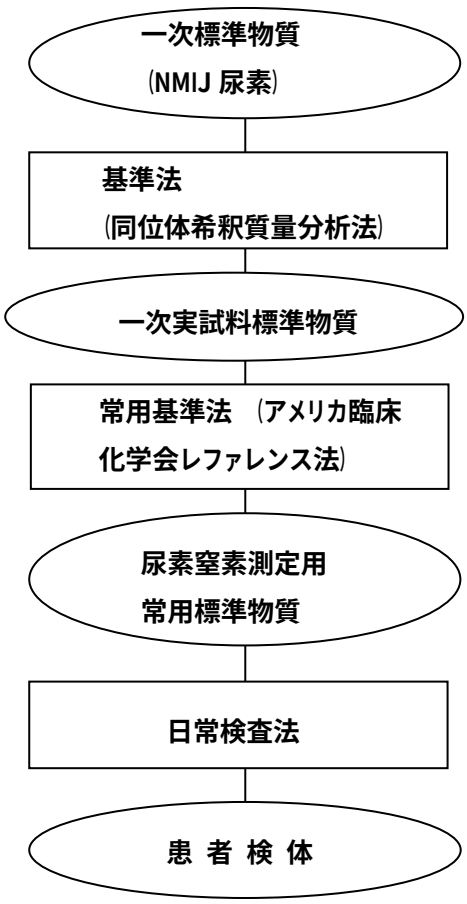


図1 尿素窒素測定の測定体系

２．性状規格

（１）off-the-clot 分離血清を－70℃に保存したヒト血清を用いて調整したもので、その規格を以下に示す。

濃度は 8～50 mg/dl の範囲で 3 レベルとする。おおよその濃度範囲は以下の通りとする。

レベル１：8　～12　mg/dl

レベル２：20　～30　mg/dl

レベル３：40　～50　mg/dl

（２）その他の項目

密度　　1.022～1.025g/cm^3 (25℃)とする

総タンパク、アルブミン、コレステロール、中性脂肪はいずれも基準範囲内とする。

アンモニア性窒素は 0.15mmol/ l 以下とする。

アスコルビン酸　は 0.2μg/ml 以下のものとする。

（３）感染性については、HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出のものとする。

３．調製方法

（１）調製方法について以下に示す。

１）採血後２週間以内のヒト血清であって、アンモニア性窒素 0.15mmol/l 以下であり、かつ尿素濃度 8～12 mg/dl のものを用いる。

２）尿素濃度 8～12　mg/dl であることを測定により確認したヒト血清を血清ろ過器を用いてろ過後、３分割する。

３）レベル１（中レベル）はそのままとする。

４）レベル２は尿素純品(NIST SRM912a)を水に溶かした液を濃度範囲が 20～30mg/dl になるように添加し、十分撹拌する。

５）レベル３は同様にして濃度範囲が 40～50mg/dl になるように調整し、十分撹拌した。それぞれプラスチックバイアル容器に分注し、フタを閉める。

（２）調製にあたっての注意事項

１）プラスチックバイアル容器は、未開封のものを用いる。

２）尿素純品は、NIST SRM 912a を用いる。

３）分注器の分注精度は±0.1ml 以下のものを用いる。

４）濃度は、所定の範囲の出来るだけ中間となるように調節する。

５）血清ろ過器は、滅菌消毒後十分に消毒し、クリーンルーム内で風乾したものを用いる。

６）尿素窒素のバクテリア分解が調整中に進行するので、作業はすみやかに行い、作業を翌日に持ち越さないよう、充分に配慮する。

４．表示値の測定方法

表示値は、除タンパク後 ウレアーゼ/GLD 酵素法により求める。その操作法を以下に示す。

（１）試薬及び調製法

１）試薬

水酸化バリウム、硫酸亜鉛、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン、塩酸、アジ化ナトリウム、及び EDTA・2Na はいずれも試薬特級を用いる。

GLD, ADP, β-NADH, ウレアーゼはいずれも分析用を用い、冷凍にて保管する。

水、電気伝導度１μS/cm 以上のイオン交換水又は蒸留水を用いる。

２）調製

①トリス-HCl バッファー（105mM）

風袋引きした１リットルビーカーにトリスを 12.72ｇ量り、水を約 900ml 加えて 30℃の水浴中で溶解させる（pH10.33）。1mol/l HCL 約 70ml を加え pH7.80(30℃)に調節後、水を加えて全量 1000ml に合わせて、よく混ぜる。

②7mmol/l 硫酸亜鉛溶液

硫酸亜鉛・7 水塩(22g)を、新しく精製した温脱炭酸精製水約 900ml に溶解する。

室温まで冷却後、脱炭酸水を追加し、全量 1000ml とした。施栓して転倒混和し、ガラスまたはポリエチレン瓶に入れ、密栓して室温で保存したものとする。

③飽和水酸化バリウム溶液

水酸化バリウム・8 水塩 80g を新しく調製した温脱炭酸精製水に溶解（完全には溶けない）して、全量 1000ml とする。ソーダライム管をつけて CO_2 の吸収をさけて室温で一夜放置したものとする。

④水酸化バリウム溶液(55mmol/l 相当)

飽和水酸化バリウム溶液 245ml に脱炭酸精製水を加えて、全量 1000ml とし、以下の滴定法によって濃度を調製する。

滴定：77mmol/l 硫酸亜鉛液 10.0ml をフラスコにとり、指示薬として 0.5%フェノールフタレン溶液（95%エタノールで溶解する）２滴を加え、かすかなピンク色を終点とするまで水酸化バリウム溶液を調整する。

⑤300mg 尿素標準原液（BUN 139.95）

NIST SRM 912a（Urea）300.3mg を精秤（0.0000g まで記録）する。これに別のビーカー（50ml）に精秤した NaN_3 0.1ｇを水約 15ml で溶解して、こぼさないように加る。ビーカー内を水約 15ml で少なくとも 4 回共洗いして加えた。水を加えて全重量を 100.0ｇに合わせ、蓋をしてよく混ぜる。この溶液は 4℃で保存する。

⑥尿素標準液

・15mg/dl 尿素標準液

300ｍg/dl 尿素標準原液 5.0ｇを精秤（0.0000g まで記録）する。これに別のビーカー（50ml）に精秤した NaN_3 0.05ｇを水約 15ml で溶解して、こぼさないように加える。ビーカー内を水約 15ml で少なくとも 4 回共洗いして加える。水を加えて全重量を 99.7ｇに合わせ、蓋をしてよく混ぜる。この溶液は 4℃で保存する。

・30mg/dl 尿素標準液

30ｍg/dl 尿素標準原液 10.0ｇを精秤（0.0000g まで記録）した。あとは同様に調製して、4℃で保存した。

・65mg/dl 尿素標準液

300ｍg/dl 尿素標準原液 21.67ｇを精秤（0.0000g まで記録）する。あとは同様に調製して、4℃で保存する。

⑦酵素試薬

ビーカー500ml に①のバッファー溶液をメスシリンダーで約 300ml 入れる。それぞれ薬包

紙で秤量する。GLD(31.5Uml) 0.4375g, α－ケトグルタル酸(6.3mM) 0.4236g, EDTA・2Na(4.2mM) 0.6254g, ADP(2.1mM) 0.3588g, NADH・2Na(0.21mM) 0.0559g をビーカーに加えよく溶解する。NaN_3 を 0.4g 添加後、バッファーを加えて全量を 400ml としてろ紙（0.2μm）でろ過する。

⑧ウレアーゼ溶液

ウレアーゼ（110U/ml）9.55mg を 10mM PBS 1ml で溶解し、1050U/ml の溶液を調製する。この溶液 6μl を加えた全体の液量が 1500μl になるので最終的にはウレアーゼの濃度を算出する。

（2）測定

1）除蛋白処理

水酸化バリウム溶液 4.0ml をホールピペットで加え、ボルテックミキサーで混合する。さらに、硫酸亜鉛溶液 4.0ml をホールピペットで加えて再びボルテックミキサーで混合し、上下に強く振とうする。この溶液を遠心分離（3000rpm、10 分）し、マイクロピペットを用いて上清を別のスピッツに移す。これを遠心分離（3000rpm、10 分）して上清約 4ml をパスツールピペットを用いて別のスピッツに移す。この溶液は 4℃で保存する。

5．表示値及び不確かさ

今回調整した標準物質について、前述の測定方法により測定して得られた値とその不確かさを以下に示す。

■ 認証値及び拡張不確かさ　　25℃

項目	レベル 1	レベル 2	レベル 3	単位
尿素窒素	10.0±0.1 2)	24.8±0.1 2)	44.1±0.4 2)	mg/dL

1) 認証値の拡張不確かさは ISO の指針（参考文献 1）に従って、測定の誤差成分に均質性を含めた標準不確かさ、校正に用いた標準物質の標準不確かさ及び試料調製の標準不確かさを合成して、包含係数 2.3（95%信頼水準）を乗じて求めた。

2) 尿素窒素の認証値は内因性のアンモニアを含まない。

3) 正確さのトレーサビリティの確保：表示値測定に用いた標準液の調整には NIST SRM912a (純度 99.9±0.1%）を用いた。表示値の測定における血清試料及び標準液の調製は、計量法校正事業者認定制度に基づく認定事業者が校正した天秤を使用した。

[参考]

血清の性状

本含窒素・グルコース標準血清 JCCRM 521-7 は平均的な組成を有するヒト血清を原料として、

クレアチニン、尿酸、尿素、グルコースの各物質を添加して濃度を調製したもので、その一般的な性状は以下の通りである。これらの参考値は中濃度血清を日常法で測定した値であり、正確さの評価に用いることはできない。

項目	参考値	単位	測定方法
密度	1.024(25℃)	g/cm³	
総タンパク	7.3	g/dL	ビュレット法
アルブミン	4.4	g/dL	BCG 法
アンモニア性窒素	0.16	mg/dL	除タンパク比色法
アスコルビン酸	0.2 以下	μg/ml	比色法
総コレステロール	133	mg/dL	酵素法
中性脂肪	53	mg/dL	酵素法

参考文献

１）Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISBN 92-67-10188-9, 1 st Ed ISO., Geneva, Switzerland, 1993

２）Sampson et al:A Coupled-Enzyme Equilibrium Method for Measuring Urea in Serum:Optimization and Evaluation of the AACC Study Group on the Urea Candidate Reference Method, Clin Chem 26:816-826, 1980

２－２－３－１０　インスリン

要旨

１）血清中のインスリン測定について、データの収束性を可能にするための実試料系標準物質の作成について検討した。

２）実試料系標準物質を検索する目的で、国際標準物質、市販純物質を標準物質候補として試料を作成し、あわせて健常人および患者検体血清を測定した。

３）現在の市販試薬では１キットを除くと血清値は収束していることが確認された。

４）実試料系標準物質としての検討では、調整試料、溶解物質等のマトリックスの影響は確認されなかった。また反応性の違いで、血清検体と挙動が類似しているグループ、調製試料と血清検体と挙動が類似しないグループ、その他の３つのグループにわけられることが示唆された。

５）平成 19 年度は、実試料系標準物質のプロトタイプを作成する。併せて実試料系標準物質候補品での測定値収束性の再確認をした後に、性状規格、基準測定操作法、値付けの手順、認証値と不確かさ等も含めて実試料系標準物質の作成プロトコルを完成させる。

１．目的

インスリン標準化のための研究　インスリン実試料標準物質の作成を目的とする。

注）治療薬インスリンとの反応性については本 WG では検証はしないこととする。

２．委員会の構成

本委員会は実試料系標準物質項目群の柱１J2・WG で、メンバーの構成を下記に記す。

委員長	桑　克彦（筑波大学）
	千葉　光一（(独)産業技術総合研究所）
アドバイザー	富永　真琴（山形大学）
	武井　泉（慶應義塾大学）
	森下　芳孝（三重大学）
運営管理者	松川　岳久（アークレイ㈱）
委員	浅田　一（あすか製薬㈱）
	小林　隆（栄研化学㈱）
	阪崎　伸一郎（栄研化学㈱）
	田野倉　修（㈱テイエフビー）
	滝本　徹雄（オーソ・クリニカルダイアグノスティックス（株）
	林　司（㈱カイノス）
	竹中　英樹（協和メデックス㈱）
	大石　久泰（協和メデックス㈱）
	斉藤　憲祐（デイドベーリング㈱）
	誉田　大仁（三洋化成工業㈱）
	牧　浩司（東ソー㈱）

高橋　進（日本シェーリング（株））
真子　千枝（日本ビオメリュー㈱）
葉山 優（富士レビオ㈱）
月本　あつ子（ベックマン・コールター㈱）
下川　洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
菊池　孝志（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
事務局　藤橋　和夫（日本臨床検査標準協議会）

３．委員会の開催

第６回　2006 年４月 17 日　11：00～15：00（KSP ホテル　会議室）
第７回　2006 年６月 26 日　15：00～17：00（日本臨床検査薬協会　会議室）
第８回　2006 年７月 12 日　13：00～15：00（日本臨床検査薬協会　会議室）
第９回　2006 年８月 21 日　13：00～15：00（日本臨床検査薬協会　会議室）
第 10 回　2006 年 11 月 13 日　15：00～17：30（日本臨床検査薬協会　会議室）
第 11 回　2006 年 12 月６日　15：00～17：00（日本臨床検査薬協会　会議室）
第 12 回　2007 年２月８日　15：00～17：00（日本臨床検査薬協会　会議室）

４．標準物質の設定概要

４－１実験計画書

平成 17 年度報告書に準じて試料調整をし、各メーカーにて測定。

参加試薬

キット名	メーカー名
アクセス　インスリン	ベックマン・コールター（株）
エクルーシス　インスリン	ロシュ・ダイアグノスティックス（株）
ケミルミ　インスリン	協和メデックス（株）
クオルタスシリーズ INSULIN 試薬	（株）カイノス
スフィアライト　インシュリン［Ⅱ］	三洋化成工業（株）
ルミパルス インシュリン-N	富士レビオ（株）
ルミパルスプレスト インシュリン	富士レビオ（株）
ＬＳ試薬インシュリン	栄研化学（株）
インシュリン‘栄研’	栄研化学（株）
ST-E ﾃｽﾄ｢TOSOH｣Ⅱ（IRI）	東ソー（株）

（RIA 法１試薬、EIA 法３試薬、CLIA 法１試薬、CLEIA 法４試薬、ECLIA 法１試薬）

４－２共同実験

４－２－１測定試料

インスリン測定には、国際標準品２種および市販されている純物質（Sigma－Aldrich 社製）２種を入手し、実試料標準物質の候補とした。試料の調製は HECTEF SRC に委託した。測定試料を

表１に記す。

試料				例数・濃度
1	WHO 標準品	緩衝液ベース	NIBSC 66/304	4 濃度：0、10、50、100mIU/mL
2			NIBSC 83/500	同上
3		血清ベース	NIBSC 66/304	同上
4			NIBSC 83/500	同上
5	純品	緩衝液ベース	Sigma I 0259	同上
6			Sigma I 1507	同上
7		血清ベース	Sigma I 0259	同上
8			Sigma I 1507	同上
9	IRMM ERM-DA470			1 濃度
10	患者プール血清			5 サンプル
11	健常者血清			34 サンプル

※国際標準品：

・International Reference Preparation 1stIRP NIBSC code66/304 (Human insulin)

・International Standard NIBSC code83/500 (Human insulin)

※純物質：

・SIGMA I0259；Insulin human ($C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$)，(Sigma－Aldrich Co.)

・SIGMA I1507；Insulin human ($C_{257}H_{383}N_{65}O_{77}S_6$)，(Sigma－Aldrich Co.)

※緩衝液ベース：調製する際の最初の試料の溶解は、各試料添付文書にしたがって溶解する。その後の各濃度への調製は 50mM Tris-HCl (0.1% BSA (peptidase-free)、0.5% Lactose 含む) で希釈調製をする。

※血清ベース：インスリンフリー血清

※相関確認用血清検体：

・JCCLS より患者プール血清（5 検体）

・健常人血清検体：食前と食後 2 時間後に採血した健常人検体（各 17 本　計 34 本）

・CRM470（1 濃度）

４－２－２測定方法

・試料測定は各キットの測定法に準じて（キット毎のキャリブレーターで較正した後試料、検体測定)、参加メーカーで測定

・緩衝液ベース調整試料は５重測定、その他試料は２重測定

・集計値は平均値を採用（別紙１、別紙４）

４－２－３測定結果

共同実験を実施する前に実試料候補品試料については４試薬によるパイロット評価を行った。試料の問題等は確認されなかったため全試料を共同実験で測定することとなった。

実試料候補品試料についてマトリックスの違いを確認した。各試薬の報告値（0 濃度を除く）の全試薬平均に対する比率を算出し、その平均による各試料の Buffer ベースおよび血清ベースでの比を比較した（別紙２)。多少の変動はあるが、各試薬ともマトリックスの違いによる影響は確

認されなかった。

相関確認用血清（患者プール血清、健常者血清、CRM470）における各試薬の相関性（X 軸：全試薬平均、Y 軸：各試薬の報告値）は相関係数 0.99～1.00、傾き 0.66～1.14 であった（別紙３）。

試薬Ｉのみが他キットと比較して報告値が低値傾向であったため、試薬Ｉを除外した場合の相関性は相関係数 0.99～1.00、傾き 0.92～1.10 であり血清値ではほぼ良好な相関性が確認された。（別紙５）試薬Ｉに関しては、製造元にて現在原因調査中である。以降実試料候補品試料に関する解析は試薬Ｉを除いて行った。

全試薬で標準品としている International Reference Preparation 1stIRP NIBSC code66/304 の各試薬の相関性（X 軸：全試薬平均、Y 軸：各試薬の報告値）は、傾き 0.79～1.43 であり、血清値より解離が大きくなることが確認された（別紙６）。血清値の傾きと NIBSC code66/304 の傾きが類似しているキット（試薬 D、E、G、H、J）と傾向が異なるキット（A、B、C、F）に分類された。

先述したが調整試料でのマトリックスの影響は確認されない。そのため、実試料候補品としては国際標準品より入手、調製しやすいと考えられる純品の方が好ましい。純品（例：I 0259 buffer ベース）での相関性は傾き 0.77～1.38 であり、NIBSC code66/304 と同様に血清値より解離が大きくなることが確認された（別紙４）。ただし、純品の場合でも血清値の傾きと純品（Sigma I 0259 buffer ベース）の傾きが類似しているキット（試薬 D、E、G、H、J）と傾向が異なるキット（A、B、C、F）に分類された。

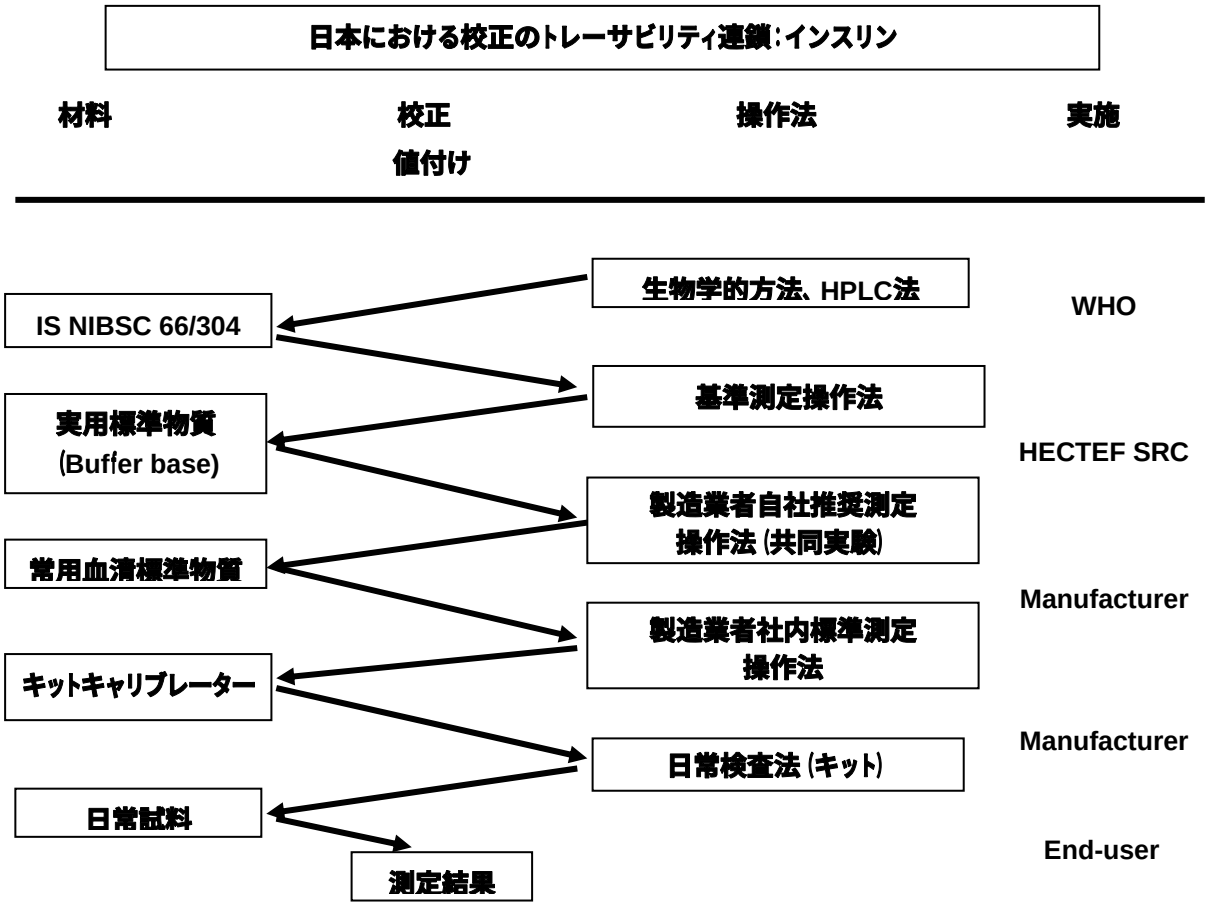
以上より下記のようなグループ分けをすることが可能となった。

・グループ①　血清検体と調製試料と挙動が同じキット
・グループ②　血清検体と調製試料と挙動が異なるキット
・グループ③　それ以外　（キット I）

５.実試料標準物質の作成プロトコル

５－１ トレーサビリティ連鎖

インスリンは全ての試薬で International Reference Preparation 1stIRP NIBSC code66/304 を標準品となっており、ほとんどのキットの血清検体値は収束していた。また、今回の共同実験の結果で市販純物質を用いた実試料標準物質でも測定値を確認することができることが示された。ただし、血清測定値と実試料標準物質とは挙動が異なる試薬も確認されたため、血清検体とを下位の標準物質として必要であり、共同実験によりその値付けを行う体系とした。



５－２ 試料の性状規格

今後、設定する。

５－３ 値付けの方法

WHO(NIBSC 66/304)から直接値付け可能な試薬を共同実験により選択し、その試薬の平均値を実試料標準物質の認証値とする。

６.今後の課題

平成 18 年度の研究において、実試料標準物質候補品を用いた共同実験を行い、その有効性について検証した。

平成 19 年度は、これまでの結果をもとに実試料標準物質候補品作製のための本格的な作業を行う。実試料標準物質候補品での収束性を再確認するとともに、作製プロトコルの作業および基準測定操作法の設定を行う。

７.結び

平成 18 年度の作業において、インスリン実試料標準物質の候補品の選択を行い、その後の作業の方向性を定めた。平成 19 年度は残る課題を推し進め、実試料標準物質の作成プロトコルを完成させる。

別紙1-1) インスリン共同実験測定結果
(開発試料)

			A		B		C		D		E		F		G		H		I		J						
No.	試料名	濃度(μU/mL)	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	平均	SD	CV	Min.	Max.
1	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	0	0.41	-0.27	0.00	-0.68	0.65	-0.03	3.29	2.61	0.22	-0.46	0.17	-0.51	<0.1		<0.1		0.02	-0.66			0.68	1.17	172.9	0.00	3.29
2	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	10	16.41	5.66	6.31	-4.45	10.34	-0.42	13.92	3.16	10.12	-0.63	10.72	-0.04	10.12	-0.63	10.28	-0.47	9.44	-1.31	9.89	-0.86	10.75	2.70	25.1	6.31	16.41
3	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	50	81.50	27.53	42.69	-11.28	54.60	0.63	58.93	4.95	52.30	-1.67	55.42	1.45	50.84	-3.13	52.92	-1.05	42.10	-11.87	48.41	-5.56	53.97	11.04	20.5	42.10	81.50
4	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	100	157.91	49.92	85.54	-22.45	108.84	0.86	118.89	10.90	104.16	-3.83	112.29	4.31	101.58	-6.41	104.72	-3.27	87.58	-20.40	98.35	-9.64	107.99	20.30	18.8	85.54	157.91
5	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	0	0.26	-0.39	0.00	-0.65	0.70	0.05	3.10	2.45	0.28	-0.37	0.19	-0.46	<0.1		<0.1		0.01	-0.64			0.65	1.11	170.7	0.00	3.10
6	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	10	13.94	3.88	6.20	-3.86	9.60	-0.46	12.57	2.50	9.86	-0.20	10.74	0.68	10.12	0.06	9.98	-0.08	8.17	-1.89	9.45	-0.61	10.06	2.13	21.2	6.20	13.94
7	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	50	73.83	23.22	39.68	-10.93	49.18	-1.43	55.70	5.09	50.08	-0.53	53.73	3.13	48.32	-2.29	51.14	0.53	38.39	-12.22	46.03	-4.58	50.61	9.85	19.5	38.39	73.83
8	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	100	142.84	40.77	80.20	-21.87	99.76	-2.31	108.27	6.21	105.14	3.07	104.48	2.42	100.34	-1.73	102.66	0.59	80.47	-21.60	96.50	-5.57	102.07	17.32	17.0	80.20	142.84
9	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	0	0.20	-0.31	0.00	-0.50	0.60	0.09	2.32	1.82	0.30	-0.20	0.09	-0.41	<0.1		<0.1		0.01	-0.49			0.50	0.83	165.0	0.00	2.32
10	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	10	12.37	3.56	8.17	-0.63	9.11	0.30	10.66	1.86	8.25	-0.55	9.91	1.11	6.40	-2.40	7.55	-1.25	8.81	0.00	6.83	-1.97	8.80	1.81	20.5	6.40	12.37
11	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	50	64.25	19.48	42.29	-2.48	49.20	4.43	47.61	2.84	43.25	-1.52	52.35	7.58	32.40	-12.37	39.30	-5.47	42.87	-1.90	34.17	-10.60	44.77	9.26	20.7	32.40	64.25
12	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	100	122.20	24.70	82.70	-14.80	170.43	72.93	101.44	3.94	85.15	-12.35	104.99	7.49	67.25	-30.25	82.75	-14.75	86.20	-11.30	71.87	-25.63	97.50	30.35	31.1	67.25	170.43
13	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	0	0.28	-0.27	0.00	-0.54	0.34	-0.20	2.89	2.35	0.15	-0.39	0.13	-0.41	<0.1		<0.1		0.02	-0.52			0.54	1.04	191.6	0.00	2.89
14	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	10	17.74	4.56	11.45	-1.73	13.53	0.34	14.88	1.69	12.85	-0.33	14.77	1.59	10.90	-2.28	12.50	-0.68	12.87	-0.32	10.37	-2.81	13.18	2.19	16.6	10.37	17.74
15	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	50	86.89	20.68	61.47	-4.74	71.94	5.73	68.52	2.30	65.65	-0.56	77.72	11.50	53.40	-12.81	61.75	-4.46	62.18	-4.03	52.61	-13.60	66.21	10.57	16.0	52.61	86.89
16	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	100	156.43	26.74	108.69	-20.99	148.40	18.71	129.42	-0.26	131.60	1.92	153.04	23.35	106.95	-22.73	126.55	-3.13	127.95	-1.74	107.83	-21.85	129.68	18.45	14.2	106.95	156.43
17	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	0	0.37	-0.24	0.00	-0.61	0.60	-0.01	3.06	2.45	0.04	-0.57	0.18	-0.43	<0.1		<0.1		0.01	-0.60			0.61	1.10	181.3	0.00	3.06
18	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	10	11.96	2.57	5.98	-3.41	8.61	-0.78	12.51	3.12	8.90	-0.49	9.75	0.37	9.86	0.47	9.42	0.03	8.13	-1.26	8.74	-0.65	9.39	1.86	19.8	5.98	12.51
19	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	50	63.94	17.23	37.12	-9.60	45.01	-1.70	52.56	5.84	48.92	2.21	49.00	2.28	44.14	-2.57	46.70	-0.01	36.28	-10.43	43.48	-3.23	46.71	7.90	16.9	36.28	63.94
20	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	100	131.71	37.95	72.84	-20.92	92.86	-0.89	98.95	5.19	93.28	-0.48	99.27	5.52	92.08	-1.68	96.14	2.38	72.11	-21.64	88.32	-5.44	93.76	16.48	17.6	72.11	131.71
21	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	0	0.48	-0.13	0.00	-0.61	0.55	-0.06	2.92	2.32	0.10	-0.51	0.19	-0.42	<0.1		<0.1		0.01	-0.60			0.61	1.04	172.2	0.00	2.92
22	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	10	17.05	5.82	7.87	-3.36	10.58	-0.65	13.99	2.76	11.00	-0.23	11.87	0.64	10.80	-0.43	11.14	-0.09	8.62	-2.61	9.38	-1.85	11.23	2.67	23.8	7.87	17.05
23	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	50	83.88	27.88	45.91	-10.09	56.33	0.33	61.67	5.67	54.16	-1.84	59.04	3.04	53.56	-2.44	55.14	-0.86	39.44	-16.56	50.87	-5.13	56.00	11.70	20.9	39.44	83.88
24	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	100	158.57	48.75	88.67	-21.16	110.81	0.99	119.16	9.34	111.46	1.64	116.64	6.81	100.30	-9.52	110.70	0.88	80.37	-29.46	101.57	-8.25	109.82	21.05	19.2	80.37	158.57
25	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	0	0.63	0.06	0.00	-0.57	0.47	-0.10	2.57	2.00	0.15	-0.42	0.13	-0.44	<0.1		<0.1		0.02	-0.55			0.57	0.91	161.3	0.00	2.57
26	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	10	9.98	2.02	6.53	-1.42	8.24	0.28	9.37	1.42	7.85	-0.10	9.07	1.11	6.50	-1.45	7.80	-0.15	7.87	-0.09	6.35	-1.60	7.95	1.25	15.8	6.35	9.98
27	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	50	47.17	9.21	36.76	-1.20	42.29	4.33	37.37	-0.59	39.25	1.29		-37.96	30.65	-7.31	37.75	-0.21	37.77	-0.19	32.63	-5.33	37.96	4.86	12.8	30.65	47.17
28	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	100	103.38	22.55	71.73	-9.10	88.34	7.51	79.87	-0.96	82.00	1.17	92.43	11.60	65.00	-15.83	79.10	-1.73	79.43	-1.40	67.01	-13.82	80.83	11.69	14.5	65.00	103.38
29	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	0	0.49	-0.09	0.00	-0.57	0.47	-0.10	2.49	1.91	0.45	-0.12	0.11	-0.47	<0.1		<0.1		0.02	-0.55			0.57	0.87	151.6	0.00	2.49
30	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	10	10.89	1.77	7.56	-1.56	9.97	0.84	10.72	1.59	9.00	-0.12	10.60	1.48	7.15	-1.97	8.55	-0.57	9.28	0.16	7.50	-1.62	9.12	1.41	15.5	7.15	10.89
31	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	50	55.67	11.01	42.66	-2.00	51.11	6.45	46.04	1.38	46.35	1.69	52.79	8.13	34.40	-10.26	41.55	-3.11	40.63	-4.03	35.37	-9.29	44.66	7.11	15.9	34.40	55.67
32	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	100	111.17	19.57	80.90	-10.70	103.17	11.57	99.47	7.87	90.50	-1.10	108.14	16.55	71.55	-20.05	85.05	-6.55	90.84	-0.76	75.21	-16.39	91.60	13.67	14.9	71.55	111.17

別紙1-2) インスリン共同実験測定結果
(相関確認用試料)

			A		B		C		D		E		F		G		H		I		J						
No.	試料名	濃度(μU/mL)	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	報告値	報告値-平均値	平均	SD	CV	Min.	Max.
70	IRMM ERM-DA470		9.96	3.11	5.91	-0.94	7.62	0.77	7.45	0.60	6.55	-0.30	6.46	-0.38	7.05	0.20	6.70	-0.15	5.49	-1.36	5.29	-1.56	6.85	1.34	19.5	5.29	9.96
71	インスリン-C-ペプチド:患者プール血清1		4.10	0.81	6.29	2.99	3.50	0.20	2.88	-0.41	2.95	-0.34	2.44	-0.85	3.05	-0.24	2.95	-0.34	2.31	-0.98	2.48	-0.81	3.29	1.18	35.7	2.31	6.29
72	インスリン-C-ペプチド:患者プール血清2		10.16	2.43	9.32	1.59	8.61	0.88	6.94	-0.79	8.00	0.27	6.00	-1.72	8.15	0.42	7.85	0.12	5.58	-2.15	6.67	-1.06	7.73	1.45	18.7	5.58	10.16
73	インスリン-C-ペプチド:患者プール血清3		11.62	2.83	9.72	0.94	8.98	0.20	8.24	-0.54	9.60	0.82	7.59	-1.19	8.40	-0.38	8.45	-0.33	6.64	-2.14	8.58	-0.20	8.78	1.34	15.3	6.64	11.62
74	インスリン-C-ペプチド:患者プール血清4		23.65	6.57	20.20	3.11	19.10	2.02	16.10	-0.98	17.55	0.47	14.84	-2.24	16.40	-0.68	15.85	-1.23	11.88	-5.20	15.25	-1.83	17.08	3.26	19.1	11.88	23.65
75	インスリン-C-ペプチド:患者プール血清5		32.45	7.36	28.55	3.47	28.27	3.18	24.06	-1.02	25.00	-0.08	22.93	-2.15	24.60	-0.48	25.30	0.22	17.38	-7.70	22.28	-2.80	25.08	4.08	16.3	17.38	32.45
81	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前1ー1		7.15	1.30	6.34	0.49	5.38	-0.47	5.92	0.06	5.75	-0.10	5.89	0.04	6.10	0.25	6.20	0.35	4.29	-1.57	5.52	-0.33	5.85	0.74	12.6	4.29	7.15
82	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前2ー1		7.76	2.64	5.94	0.83	5.38	0.27	4.66	-0.45	4.70	-0.41	4.69	-0.43	5.20	0.09	4.80	-0.31	3.48	-1.63	4.54	-0.57	5.11	1.12	22.0	3.48	7.76
83	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前3ー1		12.68	2.17	11.14	0.63	11.32	0.81	10.71	0.20	10.45	-0.06	9.96	-0.55	11.00	0.49	10.80	0.29	7.37	-3.14	9.67	-0.84	10.51	1.37	13.1	7.37	12.68
84	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前4ー1		2.19	-1.18	4.42	1.05	3.25	-0.12	3.50	0.13	3.40	0.03	3.53	0.16	3.80	0.43	3.75	0.38	2.68	-0.69	3.16	-0.21	3.37	0.62	18.3	2.19	4.42
85	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前5ー1		5.23	1.19	4.48	0.44	4.25	0.21	3.39	-0.65	4.05	0.01	3.99	-0.05	4.35	0.31	4.15	0.11	2.87	-1.17	3.62	-0.42	4.04	0.64	15.9	2.87	5.23
86	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前6ー1		4.84	1.16	4.61	0.93	3.50	-0.18	3.67	-0.01	3.35	-0.33	3.64	-0.04	3.80	0.12	3.70	0.02	2.37	-1.31	3.33	-0.35	3.68	0.69	18.6	2.37	4.84
87	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前7ー1		2.42	0.49	1.33	-0.60	2.11	0.18	2.18	0.25	2.10	0.17	1.85	-0.08	2.20	0.27	2.10	0.17	1.34	-0.59	1.68	-0.25	1.93	0.37	19.2	1.33	2.42
88	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前8ー1		7.13	1.53	6.82	1.22	5.76	0.16	5.30	-0.30	5.30	-0.30	5.39	-0.21	6.20	0.60	5.80	0.20	3.71	-1.89	4.57	-1.03	5.60	1.01	18.0	3.71	7.13
89	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前9ー1		20.52	5.09	18.58	3.15	16.93	1.50	15.23	-0.20	14.70	-0.73	14.68	-0.75	15.75	0.32	15.10	-0.33	9.09	-6.34	13.73	-1.70	15.43	3.03	19.6	9.09	20.52
90	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前10ー1		18.38	4.17	16.48	2.27	15.72	1.51	13.60	-0.61	14.25	0.04	12.91	-1.30	14.05	-0.16	13.40	-0.81	9.89	-4.32	13.40	-0.81	14.21	2.28	16.1	9.89	18.38
91	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前11ー1		12.74	3.18	10.53	0.97	10.34	0.77	9.80	0.23	9.05	-0.51	9.22	-0.34	9.75	0.19	9.45	-0.11	6.21	-3.35	8.54	-1.02	9.56	1.65	17.2	6.21	12.74
92	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前12ー1		6.65	1.86	2.88	-1.92	5.76	0.96	3.74	-1.06	5.05	0.26	4.75	-0.04	5.50	0.71	5.20	0.41	3.61	-1.19	4.80	0.01	4.79	1.12	23.4	2.88	6.65
93	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前13ー1		5.30	1.37	5.39	1.46	3.87	-0.06	3.76	-0.17	3.55	-0.38	3.47	-0.46	4.10	0.17	3.85	-0.08	2.63	-1.30	3.36	-0.57	3.93	0.85	21.5	2.63	5.39
94	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前14ー1		10.36	2.28	8.66	0.57	8.36	0.28	8.18	0.09	7.75	-0.33	7.77	-0.31	8.60	0.52	8.25	0.17	5.68	-2.41	7.25	-0.83	8.08	1.18	14.6	5.68	10.36
95	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前15ー1		6.60	1.40	4.07	-1.13	5.88	0.67	5.28	0.07	4.90	-0.30	5.15	-0.05	5.75	0.55	5.80	0.60	3.66	-1.54	4.95	-0.25	5.20	0.87	16.8	3.66	6.60
96	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前16ー1		24.92	7.34	18.32	0.74	19.22	1.64	17.45	-0.13	17.20	-0.38	15.79	-1.79	17.60	0.02	17.30	-0.28	11.82	-5.76	16.18	-1.40	17.58	3.26	18.6	11.82	24.92
97	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食前17ー1		15.56	4.51	15.28	4.23	12.06	1.01	10.66	-0.39	10.70	-0.35	9.36	-1.68	10.35	-0.70	10.10	-0.95	7.10	-3.95	9.32	-1.73	11.05	2.63	23.8	7.10	15.56
101	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後1ー2		42.74	8.91	36.16	2.33	35.85	2.02	35.57	1.74	32.70	-1.13	32.95	-0.88	34.40	0.57	34.45	0.62	21.52	-12.31	31.96	-1.87	33.83	5.27	15.6	21.52	42.74
102	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後2ー2		48.26	14.74	36.72	3.20	36.89	3.36	34.65	1.13	32.05	-1.47	31.58	-1.94	32.10	-1.42	31.40	-2.12	21.10	-12.42	30.50	-3.02	33.52	6.80	20.3	21.10	48.26
103	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後3ー2		78.98	12.23	71.28	4.53	75.29	8.54	62.63	-4.12	65.85	-0.90	67.44	0.69	66.60	-0.15	68.75	2.00	46.76	-19.99	63.88	-2.87	66.75	8.65	13.0	46.76	78.98
104	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後4ー2		37.37	-3.90	49.48	8.21	44.56	3.29	45.40	4.13	41.85	0.58	41.24	-0.03	41.55	0.28	41.40	0.13	29.70	-11.57	40.17	-1.10	41.27	5.23	12.7	29.70	49.48
105	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後5ー2		57.86	7.05	55.60	4.80	55.58	4.77	57.77	6.96	49.80	-1.01	51.35	0.55	49.15	-1.66	49.75	-1.06	33.74	-17.07	47.45	-3.36	50.81	7.08	13.9	33.74	57.86
106	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後6ー2		58.01	11.20	50.80	4.00	50.77	3.96	51.98	5.17	44.85	-1.96	42.26	-4.54	47.00	0.19	47.80	0.99	29.26	-17.55	45.33	-1.48	46.81	7.60	16.2	29.26	58.01
107	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後7ー2		15.86	3.18	14.61	1.93	12.18	-0.50	13.63	0.95	12.85	0.17	11.81	-0.87	13.15	0.47	12.80	0.12	8.07	-4.61	11.83	-0.85	12.68	2.05	16.2	8.07	15.86
108	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後8ー2		79.35	13.47	70.81	4.93	70.75	4.86	77.66	11.78	62.10	-3.78	59.83	-6.05	66.80	0.92	67.70	1.82	45.14	-20.74	58.67	-7.21	65.88	10.03	15.2	45.14	79.35
109	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後9ー2		146.70	18.35	147.06	18.72	137.60	9.25	152.27	23.92	120.00	-8.35	121.11	-7.24	127.55	-0.80	130.60	2.25	80.99	-47.36	119.58	-8.77	128.35	20.53	16.0	80.99	152.27
110	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後10ー2		154.04	16.87	149.40	12.23	152.97	15.79	152.05	14.87	132.65	-4.52	130.17	-7.00	136.05	-1.12	137.45	0.28	92.70	-44.47	134.25	-2.92	137.17	18.14	13.2	92.70	154.04
111	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後11ー2		42.71	10.36	37.05	4.70	34.23	1.88	32.55	0.20	31.55	-0.80	32.42	0.07	31.20	-1.15	31.40	-0.95	20.81	-11.54	29.59	-2.76	32.35	5.54	17.1	20.81	42.71
112	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後12ー2		47.65	11.41	35.47	-0.76	41.94	5.70	38.20	1.96	36.50	0.26	34.36	-1.87	35.00	-1.24	34.25	-1.99	24.35	-11.89	34.64	-1.60	36.24	5.97	16.5	24.35	47.65
113	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後13ー2		63.01	12.18	56.62	5.79	54.91	4.08	55.42	4.58	48.10	-2.73	49.27	-1.56	49.50	-1.33	51.60	0.77	32.70	-18.13	47.20	-3.63	50.83	7.98	15.7	32.70	63.01
114	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後14ー2		47.10	10.24	38.97	2.11	39.20	2.34	38.70	1.84	35.65	-1.21	34.73	-2.13	38.25	1.39	37.50	0.64	24.25	-12.61	34.24	-2.62	36.86	5.70	15.5	24.25	47.10
115	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後15ー2		20.05	6.24	13.31	-0.50	14.26	0.45	13.46	-0.36	13.90	0.09	13.13	-0.68	14.25	0.44	14.15	0.34	8.94	-4.88	12.69	-1.12	13.81	2.69	19.5	8.94	20.05
116	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後16ー2		78.10	13.65	61.32	-3.13	70.75	6.30	72.02	7.57	63.90	-0.55	61.39	-3.06	63.85	-0.60	64.45	0.00	47.80	-16.65	60.90	-3.55	64.45	8.12	12.6	47.80	78.10
117	インスリン-C-ペプチド:健常人血清食後17ー2		63.85	6.86	66.74	9.75	63.43	6.44	63.17	6.17	56.25	-0.74	53.92	-3.07	54.95	-2.04	54.95	-2.04	40.01	-16.99	52.64	-4.35	56.99	7.80	13.7	40.01	66.74

別紙2) 平均値に対する比

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
1	インスリン NIBSC 66/304 Butterベース	0										
2	インスリン NIBSC 66/304 Butterベース	10	1.53	0.59	0.96	1.29	0.94	1.00	0.94	0.96	0.88	0.92
3	インスリン NIBSC 66/304 Butterベース	50	1.51	0.79	1.01	1.09	0.97	1.03	0.94	0.98	0.78	0.90
4	インスリン NIBSC 66/304 Butterベース	100	1.46	0.79	1.01	1.10	0.96	1.04	0.94	0.97	0.81	0.91
	平均		1.50	0.72	0.99	1.16	0.96	1.02	0.94	0.97	0.82	0.91

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
5	インスリン NIBSC 83/500 Butterベース	0										
6	インスリン NIBSC 83/500 Butterベース	10	1.39	0.62	0.95	1.25	0.98	1.07	1.01	0.99	0.81	0.94
7	インスリン NIBSC 83/500 Butterベース	50	1.46	0.78	0.97	1.10	0.99	1.06	0.95	1.01	0.76	0.91
8	インスリン NIBSC 83/500 Butterベース	100	1.40	0.79	0.98	1.06	1.03	1.07	0.98	1.01	0.79	0.95
	平均		1.41	0.73	0.97	1.14	1.00	1.05	0.98	1.00	0.79	0.93

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
9	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	0										
10	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	10	1.40	0.93	1.03	1.21	0.94	1.13	0.73	0.86	1.00	0.78
11	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	50	1.44	0.94	1.10	1.06	0.97	1.17	0.72	0.88	0.96	0.76
12	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	100	1.25	0.85	1.75	1.04	0.87	1.08	0.69	0.85	0.88	0.74
	平均		1.36	0.91	1.29	1.10	0.93	1.12	0.71	0.86	0.95	0.76

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
13	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	0										
14	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	10	1.35	0.87	1.03	1.13	0.97	1.12	0.83	0.95	0.98	0.79
15	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	50	1.31	0.93	1.09	1.03	0.99	1.17	0.81	0.93	0.94	0.79
16	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	100	1.21	0.84	1.14	1.00	1.01	1.18	0.82	0.98	0.99	0.83
	平均		1.29	0.88	1.09	1.05	0.99	1.16	0.82	0.95	0.97	0.80

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
17	インスリン 純品Sigma I 0259 Butterベース	0										
18	インスリン 純品Sigma I 0259 Butterベース	10	1.27	0.64	0.92	1.33	0.95	1.04	1.05	1.00	0.87	0.93
19	インスリン 純品Sigma I 0259 Butterベース	50	1.37	0.79	0.96	1.13	1.05	1.05	0.94	1.00	0.78	0.93
20	インスリン 純品Sigma I 0259 Butterベース	100	1.40	0.78	0.99	1.06	0.99	1.06	0.98	1.03	0.77	0.94
	平均		1.35	0.74	0.96	1.17	1.00	1.05	0.99	1.01	0.80	0.93

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
21	インスリン 純品Sigma I 1507 Butterベース	0										
22	インスリン 純品Sigma I 1507 Butterベース	10	1.52	0.70	0.94	1.25	0.98	1.06	0.96	0.99	0.77	0.84
23	インスリン 純品Sigma I 1507 Butterベース	50	1.50	0.82	1.01	1.10	0.97	1.05	0.96	0.98	0.70	0.91
24	インスリン 純品Sigma I 1507 Butterベース	100	1.44	0.81	1.01	1.08	1.01	1.06	0.91	1.01	0.73	0.92
	平均		1.49	0.78	0.99	1.14	0.99	1.06	0.94	0.99	0.73	0.89

No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
25	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	0										
26	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	10	1.25	0.82	1.04	1.18	0.99	1.14	0.82	0.98	0.99	0.80
27	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	50	1.24	0.97	1.11	0.98	1.03	0.00	0.81	0.99	1.00	0.86
28	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	100	1.28	0.89	1.09	0.99	1.01	1.14	0.80	0.98	0.98	0.83
	平均		1.26	0.89	1.08	1.05	1.01	0.76	0.81	0.98	0.99	0.83

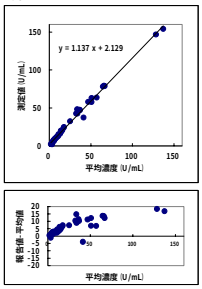
No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値/平均値	B 報告値/平均値	C 報告値/平均値	D 報告値/平均値	E 報告値/平均値	F 報告値/平均値	G 報告値/平均値	H 報告値/平均値	I 報告値/平均値	J 報告値/平均値
29	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	0										
30	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	10	1.19	0.83	1.09	1.17	0.99	1.16	0.78	0.94	1.02	0.82
31	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	50	1.25	0.96	1.14	1.03	1.04	1.18	0.77	0.93	0.91	0.79
32	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	100	1.21	0.88	1.13	1.09	0.99	1.18	0.78	0.93	0.99	0.82
	平均		1.22	0.89	1.12	1.10	1.00	1.18	0.78	0.93	0.97	0.81

※ベースの違いでの反応性の比較

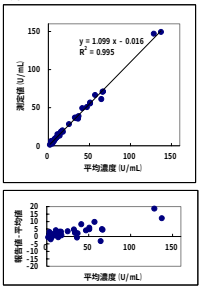
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
NIBSC 66/304 Butter平均／NIBSC 66/304 血清 平均	1.10	0.80	0.77	1.05	1.04	0.91	1.32	1.12	0.87	1.20
NIBSC 83/500 Butter平均／NIBSC 83/500 血清 平均	1.10	0.83	0.89	1.08	1.01	0.91	1.20	1.05	0.81	1.16
Sigma I 0259 Butter平均／Sigma I 0259 血清 平均	1.07	0.82	0.89	1.12	0.99	1.38	1.23	1.03	0.81	1.13
Sigma I 1507 Butter平均／Sigma I 1507 血清 平均	1.22	0.87	0.88	1.04	0.98	0.90	1.21	1.07	0.76	1.10
平均	1.12	0.83	0.86	1.07	1.00	1.02	1.24	1.07	0.81	1.14
CV	5.92	3.75	6.88	3.03	2.42	23.09	4.43	3.92	5.72	3.82

別紙3）平均値に対する各社測定値

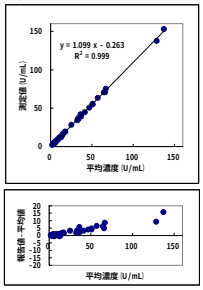
試薬A



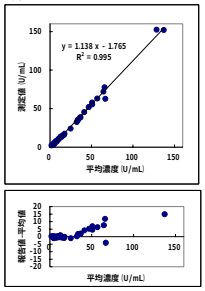
試薬B



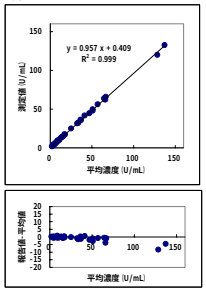
試薬C



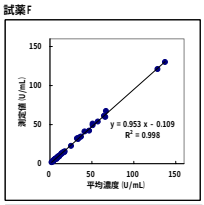
試薬D

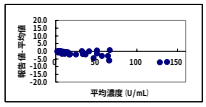


試薬E

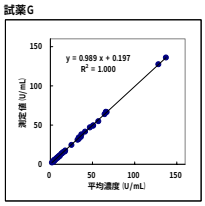


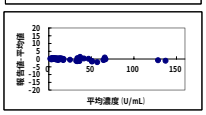
試薬F



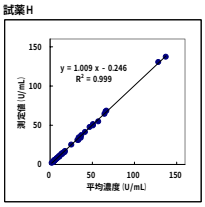


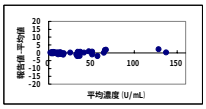
試薬G



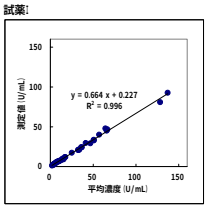


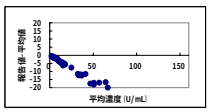
試薬H



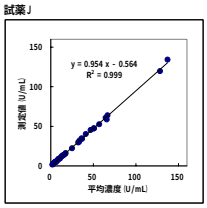


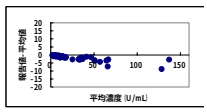
試薬I



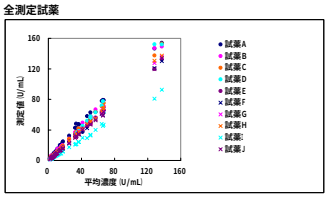


試薬J





全測定試薬

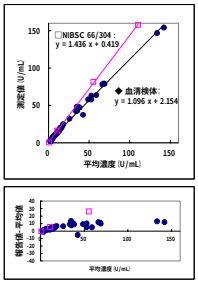


別紙4-1）インスリン共同実験測定結果（試薬H除く）
（開発試料）

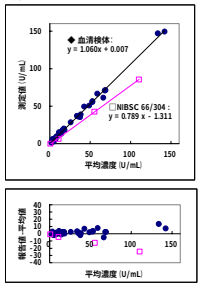
No.	試料名	濃度(μU/mL)	A 報告値	A 報告値-平均値	B 報告値	B 報告値-平均値	C 報告値	C 報告値-平均値	D 報告値	D 報告値-平均値	E 報告値	E 報告値-平均値	F 報告値	F 報告値-平均値	G 報告値	G 報告値-平均値	H 報告値	H 報告値-平均値	J 報告値	J 報告値-平均値	平均	SD	CV	Min.	Max.
1	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	0	0.41	-0.38	0.00	-0.79	0.65	-0.14	3.29	2.50	0.22	-0.57	0.17	-0.62	<0.1		<0.1				0.79	1.24	157.8	0.00	3.29
2	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	10	16.41	5.51	6.31	-4.59	10.34	-0.56	13.92	3.02	10.12	-0.78	10.72	-0.18	10.12	-0.78	10.28	-0.62	9.89	-1.01	10.90	2.82	25.8	6.31	16.41
3	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	50	81.50	26.21	42.69	-12.60	54.60	-0.69	58.93	3.64	52.30	-2.99	55.42	0.13	50.84	-4.45	52.92	-2.37	48.41	-6.88	55.29	10.85	19.6	42.69	81.50
4	インスリン NIBSC 66/304 Bufferベース	100	157.91	47.66	85.54	-24.71	108.84	-1.41	118.89	8.63	104.16	-6.09	112.29	2.04	101.58	-8.67	104.72	-5.53	98.35	-11.90	110.25	20.15	18.3	85.54	157.91
5	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	0	0.26	-0.49	0.00	-0.75	0.70	-0.06	3.10	2.34	0.28	-0.47	0.19	-0.57	<0.1		<0.1				0.75	1.17	155.3	0.00	3.10
6	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	10	13.94	3.67	6.20	-4.07	9.60	-0.67	12.57	2.29	9.86	-0.41	10.74	0.47	10.12	-0.15	9.98	-0.29	9.45	-0.82	10.27	2.15	20.9	6.20	13.94
7	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	50	73.83	21.87	39.68	-12.29	49.18	-2.79	55.70	3.73	50.08	-1.88	53.73	1.77	48.32	-3.64	51.14	-0.82	46.03	-5.93	51.96	9.40	18.1	39.68	73.83
8	インスリン NIBSC 83/500 Bufferベース	100	142.84	38.37	80.20	-24.27	99.76	-4.71	108.27	3.81	105.14	0.67	104.48	0.02	100.34	-4.13	102.66	-1.81	96.50	-7.97	104.47	16.52	15.8	80.20	142.84
9	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	0	0.20	-0.39	0.00	-0.58	0.60	0.01	2.32	1.74	0.30	-0.28	0.09	-0.49	<0.1		<0.1				0.58	0.88	150.0	0.00	2.32
10	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	10	12.37	3.56	8.17	-0.63	9.11	0.30	10.66	1.86	8.25	-0.55	9.91	1.11	6.40	-2.40	7.55	-1.25	6.83	-1.97	8.80	1.92	21.8	6.40	12.37
11	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	50	64.25	19.27	42.29	-2.69	49.20	4.22	47.61	2.63	43.25	-1.73	52.35	7.37	32.40	-12.58	39.30	-5.68	34.17	-10.81	44.98	9.80	21.8	32.40	64.25
12	インスリン NIBSC 66/304 血清ベース	100	122.20	23.45	82.70	-16.06	170.43	71.68	101.44	2.68	85.15	-13.60	104.99	6.24	67.25	-31.50	82.75	-16.00	71.87	-26.88	98.75	31.91	32.3	67.25	170.43
13	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	0	0.28	-0.36	0.00	-0.63	0.34	-0.29	2.89	2.26	0.15	-0.48	0.13	-0.50	<0.1		<0.1				0.63	1.11	176.3	0.00	2.89
14	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	10	17.74	4.52	11.45	-1.77	13.53	0.30	14.88	1.65	12.85	-0.37	14.77	1.55	10.90	-2.32	12.50	-0.72	10.37	-2.85	13.22	2.32	17.5	10.37	17.74
15	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	50	86.89	20.23	61.47	-5.19	71.94	5.28	68.52	1.85	65.65	-1.01	77.72	11.06	53.40	-13.26	61.75	-4.91	52.61	-14.05	66.66	11.11	16.7	52.61	86.89
16	インスリン NIBSC 83/500 血清ベース	100	156.43	26.55	108.69	-21.19	148.40	18.52	129.42	-0.46	131.60	1.72	153.04	23.16	106.95	-22.93	126.55	-3.33	107.83	-22.05	129.88	19.55	15.1	106.95	156.43
17	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	0	0.37	-0.34	0.00	-0.71	0.60	-0.11	3.06	2.35	0.04	-0.67	0.18	-0.53	<0.1		<0.1				0.71	1.17	165.7	0.00	3.06
18	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	10	11.96	2.43	5.98	-3.55	8.61	-0.92	12.51	2.98	8.90	-0.63	9.75	0.23	9.86	0.33	9.42	-0.11	8.74	-0.79	9.53	1.92	20.1	5.98	12.51
19	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	50	63.94	16.07	37.12	-10.76	45.01	-2.86	52.56	4.68	48.92	1.05	49.00	1.12	44.14	-3.73	46.70	-1.17	43.48	-4.39	47.87	7.42	15.5	37.12	63.94
20	インスリン 純品Sigma I 0259 Bufferベース	100	131.71	35.55	72.84	-23.32	92.86	-3.30	98.95	2.78	93.28	-2.88	99.27	3.11	92.08	-4.08	96.14	-0.02	88.32	-7.84	96.16	15.50	16.1	72.84	131.71
21	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	0	0.48	-0.23	0.00	-0.71	0.55	-0.16	2.92	2.22	0.10	-0.61	0.19	-0.52	<0.1		<0.1				0.71	1.11	156.9	0.00	2.92
22	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	10	17.05	5.53	7.87	-3.65	10.58	-0.94	13.99	2.47	11.00	-0.52	11.87	0.36	10.80	-0.72	11.14	-0.38	9.38	-2.14	11.52	2.66	23.1	7.87	17.05
23	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	50	83.88	26.04	45.91	-11.93	56.33	-1.51	61.67	3.83	54.16	-3.68	59.04	1.20	53.56	-4.28	55.14	-2.70	50.87	-6.97	57.84	10.76	18.6	45.91	83.88
24	インスリン 純品Sigma I 1507 Bufferベース	100	158.57	45.47	88.67	-24.43	110.81	-2.29	119.16	6.07	111.46	-1.64	116.64	3.54	100.30	-12.80	110.70	-2.40	101.57	-11.53	113.10	19.44	17.2	88.67	158.57
25	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	0	0.63	-0.03	0.00	-0.66	0.47	-0.19	2.57	1.91	0.15	-0.51	0.13	-0.53	<0.1		<0.1				0.66	0.96	146.5	0.00	2.57
26	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	10	9.98	2.01	6.53	-1.43	8.24	0.27	9.37	1.41	7.85	-0.11	9.07	1.10	6.50	-1.46	7.80	-0.16	6.35	-1.61	7.96	1.33	16.7	6.35	9.98
27	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	50	47.17	9.18	36.76	-1.22	42.29	4.30	37.37	-0.62	39.25	1.27		-37.98	30.65	-7.33	37.75	-0.23	32.63	-5.35	37.98	5.19	13.7	30.65	47.17
28	インスリン 純品Sigma I 0259 血清ベース	100	103.38	22.39	71.73	-9.25	88.34	7.35	79.87	-1.11	82.00	1.02	92.43	11.45	65.00	-15.98	79.10	-1.88	67.01	-13.97	80.98	12.39	15.3	65.00	103.38
29	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	0	0.49	-0.18	0.00	-0.67	0.47	-0.20	2.49	1.82	0.45	-0.22	0.11	-0.56	<0.1		<0.1				0.67	0.91	137.3	0.00	2.49
30	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	10	10.89	1.79	7.56	-1.55	9.97	0.86	10.72	1.61	9.00	-0.10	10.60	1.50	7.15	-1.95	8.55	-0.55	7.50	-1.60	9.10	1.49	16.4	7.15	10.89
31	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	50	55.67	10.57	42.66	-2.44	51.11	6.01	46.04	0.94	46.35	1.25	52.79	7.69	34.40	-10.70	41.55	-3.55	35.37	-9.73	45.10	7.39	16.4	34.40	55.67
32	インスリン 純品Sigma I 1507 血清ベース	100	111.17	19.49	80.90	-10.78	103.17	11.49	99.47	7.78	90.50	-1.18	108.14	16.46	71.55	-20.13	85.05	-6.63	75.21	-16.47	91.68	14.50	15.8	71.55	111.17

別紙5) 平均値に対する各社測定値 (血清検体＋NIBSC 66/304 Bufferベース)

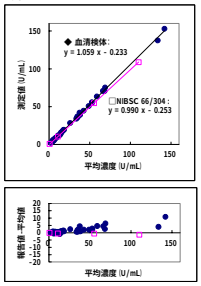
試薬A



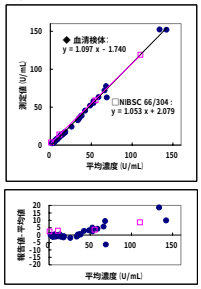
試薬B



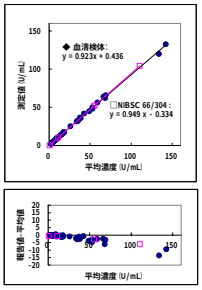
試薬C



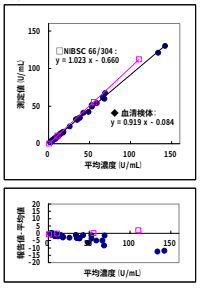
試薬D



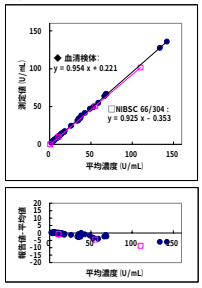
試薬E



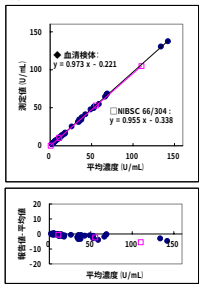
試薬F



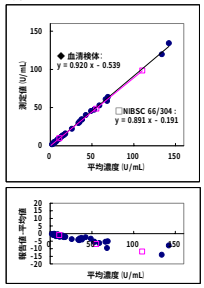
試薬G



試薬H

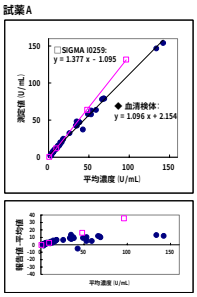


試薬J

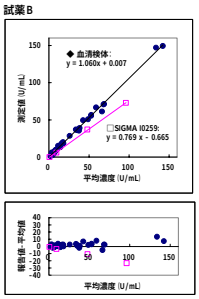


別紙6) 平均値に対する各社測定値 (血清検体＋SIGMA I0259 Buffer ベース)

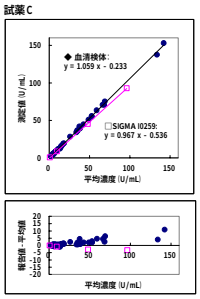
試薬A



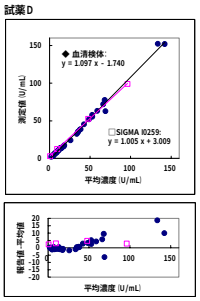
試薬B



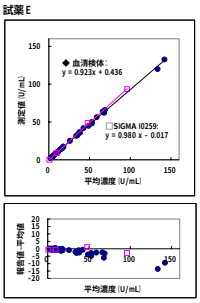
試薬C



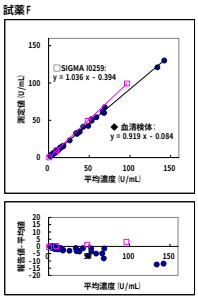
試薬D



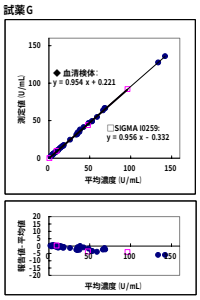
試薬E



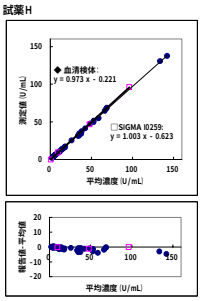
試薬F



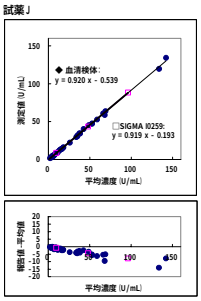
試薬G



試薬H



試薬J



２－２－３－１１　　C-ペプチド

要旨

１）C-ペプチドの測定について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための C-ペプチドの実試料系標準物質の作成について検討した。

２）実試料系標準物質候補を探索する目的で、国際標準品、市販純物質、患者プール血清を用いて、各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。

３）実試料系標準物質の候補としてプール血清が有効である事が確認された。

４）平成 19 年度は、実試料系標準物質のプロトタイプを作成する。併せて実試料系標準物質候補品での測定値収束性の再確認をした後に、性状規格、基準測定操作法、値付けの手順、認証値と不確かさ等も含めて実試料系標準物質の作成プロトコルを完成させる。

１．目的

本実試料項目、J2（C-ペプチド）では、実試料系標準物質の作成を行い、市販試薬におけるデータの収束性を可能にすることを目的とする。

２．委員会の構成

本委員会は、実試料系標準物質項目群の柱 1J2･WG で、メンバーの構成を下記に記す。

委員長	桑　克彦（筑波大学）
	千葉　光一（(独)産業技術総合研究所）
アドバイザー	富永　真琴（山形大学）
	武井　泉（慶應義塾大学）
	森下　芳孝（三重大学）
運営管理者	松川　岳久（アークレイ㈱）
委員	浅田　一（あすか製薬㈱）
	小林　隆（栄研化学㈱）
	阪崎　伸一郎（栄研化学㈱）
	田野倉　修（㈱テイエフビー）
	滝本　徹雄（オーソ・クリニカルダイアグノスティックス（株）
	林　司（㈱カイノス）
	竹中　英樹（協和メデックス㈱）
	大石　久泰（協和メデックス㈱）
	斉藤　憲祐（デイドベーリング㈱）
	誉田　大仁（三洋化成工業㈱）
	牧　浩司（東ソー㈱）
	高橋　進（日本シェーリング（株)）
	真子　千枝（日本ビオメリュー㈱）
	葉山 優（富士レビオ㈱）

月本　あつ子（ベックマン・コールター㈱）
下川　洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
菊池　孝志（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
事務局　藤橋　和夫（日本臨床検査標準協議会）

３．委員会の開催

第 6 回会合　2006 年 4 月 17 日　11:00～15:00（KSP ホテル）
第 7 回会合　2006 年 6 月 26 日　15:00～17:00（日本臨床検査薬協会）
第 8 回会合　2006 年 7 月 12 日　13:00～15:00（日本臨床検査薬協会）
第 9 回会合　2006 年 8 月 21 日　13:00～15:00（日本臨床検査薬協会）
第 10 回会合　2006 年 11 月 13 日　15:00～17:00（日本臨床検査薬協会）
第 11 回会合　2006 年 12 月 6 日　15:00～17:00（日本臨床検査薬協会）
第 12 回会合　2007 年 2 月 8 日　15:00～17:00（日本臨床検査薬協会）

４．標準物質の設定概要

４－１ 実験計画書

平成 17 年度実行計画書に従って共同実験を実施した。実行計画書から変更した点は純物質として SIGMA C-5057 を SIGMA C-5051 および C-8662 に変更、また、各社のベース緩衝液では無く共通のベース緩衝液(0.1% BSA, 0.5% lactose, 50mM Tris-HCl pH7.5)を用いた点である。

参加試薬は 8 社 10 試薬で測定方法の内訳は、RIA 法 2 試薬、EIA 法 2 試薬、CLIA 法 1 試薬、CLEIA 法 4 試薬、ECLIA 法 1 試薬である。

表１　共同実験参加試薬名および企業

試薬名	企業名
ＡｂビーズC-ペプチド‘栄研’	栄研化学（株）
C-ペプチドキット「第一」Ⅲ	（株）テイエフビー
Ｅテスト「ＴＯＳＯＨ」Ⅱ(C-ペプチド)	東ソー（株）
ＬＳ試薬‘栄研’C-ペプチド	栄研化学（株）
エクルーシス試薬C-ペプチド	ロシュ・ダイアグノスティックス（株）
クオルタスシリーズC-ペプチド試薬	（株）カイノス
ケミルミC-ペプタイド	協和メデックス（株）
スフィアライト C-ペプチド	三洋化成工業（株）
ルミパルスC-ペプチド	富士レビオ（株）
ルミパルスプレストC-ペプチド	富士レビオ（株）

４－２ 第 1 回共同実験

４－２－１ 測定試料

C-ペプチド測定には、国際標準品として 1974 年に作成された「International Reference Reagent NIBSC code84/510」がある。この国際標準物質に加え市販されている純物質として

Sigma-Aldrich 社製の純物質を入手し、実試料標準物質候補とした。試料の調製は HECTEF SRC に委託した。測定試料の調整手順は図 1 に示した。

表 2　第 1 回共同実験測定試料

試料			例数・濃度
1	WHO 84/510	緩衝液ﾍﾞｰｽ	5 濃度：0、0.5、3、10、20 ng/mL
2		血清ﾍﾞｰｽ	同上
3	SIGMA C-5051	緩衝液ﾍﾞｰｽ	同上
4		血清ﾍﾞｰｽ	同上
5	IRMM ERM-DA470		1 濃度
6	患者ﾌﾟｰﾙ血清		5 サンプル
7	健常者血清		34 サンプル

※WHO 84/510 ; The International Reference Reagent for C-peptide of Human Insulin for Immunoassay, (NIBSC)
※SIGMA C-5051 ; Insulin C chain ($C_{153}H_{259}N_{49}O_{52}$), (Sigma-Aldrich Co.)
※緩衝液組成 ; 0.1% BSA, 0.5% lactose, 50mM Tris-HCl pH7.5
※ﾍﾞｰｽ血清 ; Insulin Free Human Serum, Lipid Stripped, (SCANTIBODIES LABORATORY, INC.)

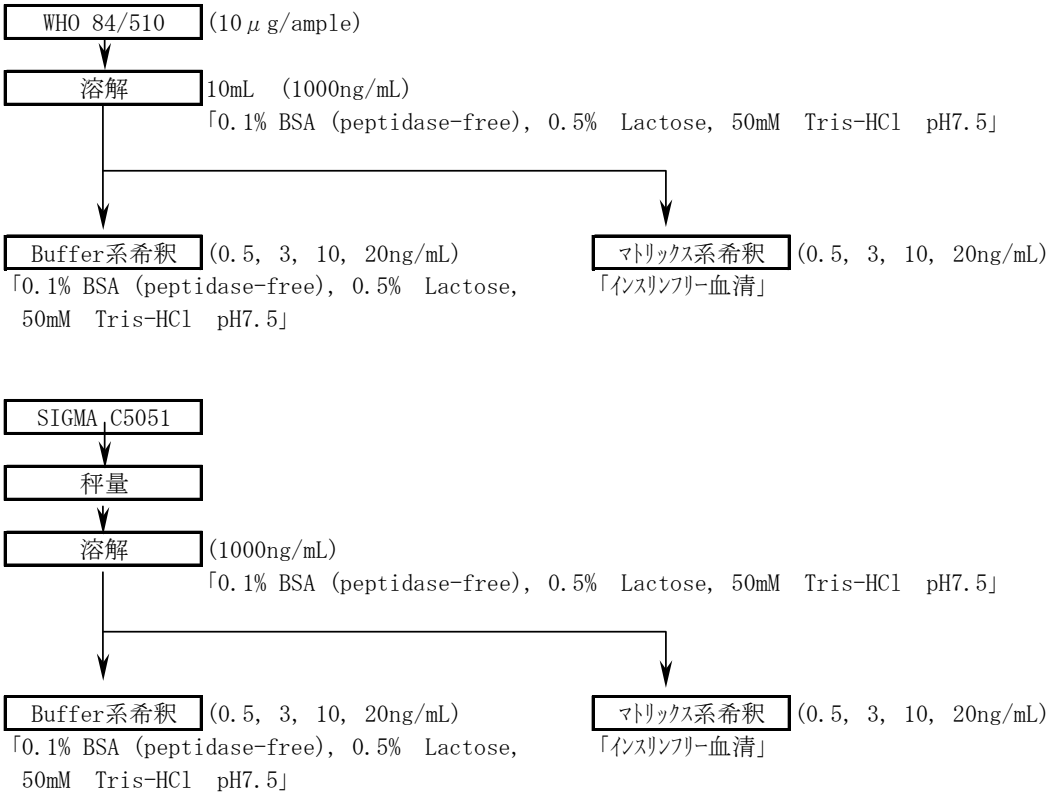


図1　第1回共同実験試料調製手順

４－２－２．測定方法

校正は各社の所定の方法で実施し、４－２－１ の測定試料を検体として測定した。

試料 1～4 は 5 重測定、試料 5～7 は 2 重測定した。測定値の平均値を用い結果の解析を行った。

４－２－３．測定結果

試料 2（WHO 84/510 血清ベース）は 4 試薬によるパイロット評価において、各キットとも測定値に直線性が認められなかったため、共同実験試料から除外した。また、試料 3、4（SIGMA C-5051 緩衝液ベースおよび血清ベース）についても複数の試薬において測定値が得られなかった為、以後の解析から除外した。（別紙 1）

試料 7（健常者血清）における各試薬の相関性（X 軸：全試薬平均値、Y 軸：各試薬の報告値）は相関係数 0.99～1.00、傾き 0.84～1.30 であった。また、傾き 0.9～1.1 範囲内は 4/10 試薬、同 0.8～1.2 範囲内は 9/10 試薬であった。（別紙 2）

WHO 84/510 緩衝液ベースと健常者血清との挙動が一致している 6 試薬（試薬 A, F, G, H, I, J）の WHO 84/510 による校正後の平均値を目標値として設定し、WHO 84/510 および患者プール血清による校正効果を検討した。校正係数は WHO 84/510 ;「表示値に対する傾き」、患者プール血清 ;「目標値に対する傾き」とし、「校正値」＝「報告値」÷「校正係数」により校正値を求めた。

WHO 84/510 による校正の結果、健常者血清の相関性は（X 軸：目標値、Y 軸：各試薬の校正値）相関係数 0.99～1.00、傾き 0.82～1.66、また傾き 0.9～1.1 範囲内は 6/10 試薬、同 0.8～1.2 範囲内は 9/10 試薬であった。目標値に対する傾き 0.9～1.1 を基準とすると、校正前後何れも基準内であった試薬が 4 試薬（試薬 G, H, I, J）、校正により基準内となった試薬 2 試薬（試薬 A, F）、校正前基準内が校正する事で逆に基準外となった試薬 3 試薬（試薬 B, D, E）、校正前後何れも基準外であった試薬が 1 試薬（試薬 C）であった。WHO 84/510 による校正では測定値の収束傾向は認められず、むしろ乖離が大きくなる傾向であった。（別紙 4）

患者プール血清による校正では、相関係数 0.99～1.00、傾き 0.85～1.06、また、傾き 0.9～1.1 範囲内は 8/10 試薬であり、全試薬が傾き 0.8～1.2 範囲内であった。校正前後何れも基準内であった試薬は 6 試薬（試薬 B, E, G, H, I, J）、校正により基準内となった試薬 2 試薬（試薬 A, F）、校正前基準内が校正により逆に基準外となった試薬 1 試薬（試薬 D）、校正前後何れも基準外であった試薬が 1 試薬（試薬 C）であった。WHO 84/510 と比較すると測定値の収束傾向は認められる。2 試薬（試薬 C, D）が傾き 0.9～1.1 範囲外ではあるが試薬 C の傾き 0.885、試薬 D の傾き 0.848 であり、ほぼ±15%以内へ収束する結果が得られる。

WHO 84/510 と患者プール血清による校正効果の傾向から各試薬を分類すると①WHO 84/510、患者プール血清どちらでも校正可能な試薬（試薬 A, F, G, H, I, J）、②患者プール血清で校正可能な試薬（試薬 B, E）、③どちらの方法でも完全には校正出来ない試薬（試薬 C, D）に分類された。（別紙 5）

表 3　校正係数

	試薬 A	試薬 B	試薬 C	試薬 D	試薬 E	試薬 F	試薬 G	試薬 H	試薬 I	試薬 J
WHO 84/510	1.418	1.209	0.743	1.035	0.819	1.300	1.048	1.072	1.028	1.079
ﾌﾟｰﾙ血清	1.468	0.930	1.391	1.097	0.975	1.220	1.067	1.006	1.048	1.133

４－３．第 2 回共同実験

４－３－１．測定試料

第 1 回共同実験時には入手出来なかった純物質 SIGMA C-8662 を入手し、標準品候補として検討した。SIGMA C-8662 のアミノ酸配列は WHO 84/510 と同じ配列であり、SIGMA C-5051 より、標準品候補として適切であると考えられる。また、ベース緩衝液組成に関する検討として H 社キャリブレーターの組成についても検討を実施した。試料の調製は HECTEF SRC に委託した。測定試料の調整手順は図 2 に示した。

表 4　第 2 回共同実験測定試料

	試料		例数・濃度
8	SIGMA C-8662	緩衝液ﾍﾞｰｽ①	5 濃度：0、0.5、3、10、20 ng/mL
9		緩衝液ﾍﾞｰｽ②	同上
10	患者ﾌﾟｰﾙ血清		10 サンプル

※SIGMA C-8662；C-Peptide Fragment 3-33 human ($C_{129}H_{211}N_{35}O_{48}$),(Sigma-Aldrich Co.)

※緩衝液組成①；0.1% BSA, 0.5% lactose, 50mM Tris-HCl pH7.5

※緩衝液組成①；H 社キャリブレーターのベース緩衝液（NaN3 未添加）

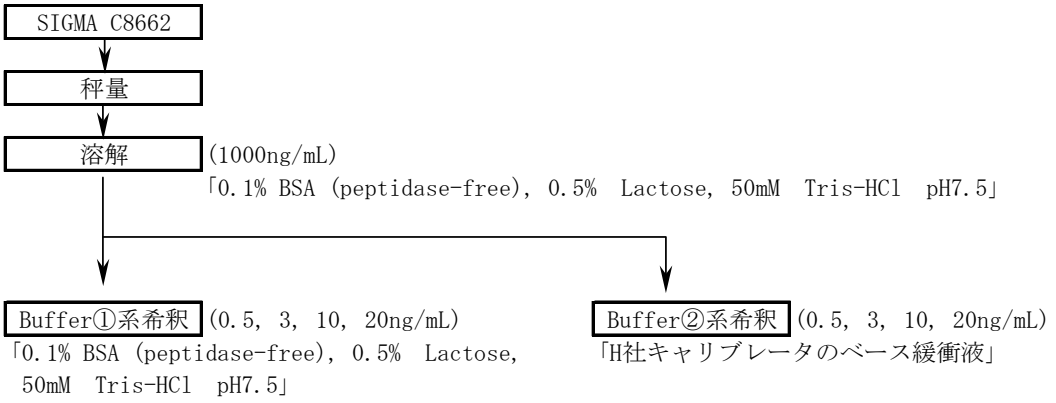


図2　第2回共同実験試料調製手順

４－３－２．測定方法

校正は各社の所定の方法で実施し、４－３－１ の測定試料を検体として測定した。

試料 1～3 を 2 重測定し、測定値の平均値を用い結果の解析を行った。

試薬 A については参加辞退の申し出でがあり、第 2 回共同実験には不参加。

４－３－３．測定結果

第一回共同実験 試料 7（健常者血清）における校正効果を SIGMA C-8662（試料 8, 9)、患者プール血清（試料 10）で検討した。校正係数は SIGMA C-8662、患者プール血清共に、「目標値に対する傾き」とし、「校正値」＝「報告値」÷「校正係数」により校正値を求めた。

C8662 緩衝液①による校正では、健常者血清の相関性は（X 軸：目標値、Y 軸：各試薬の校正値）相関係数 0.99～1.00、傾き 0.66～1.61、また傾き 0.9～1.1 範囲内は 5/9 試薬、同 0.8～1.2 範囲内は 7/9 試薬であった。目標値に対する傾き 0.9～1.1 を基準とすると、校正前後何れも基準内であった試薬が 4 試薬（試薬 G, H, I, J)、校正により基準内となった試薬 1 試薬(試薬 F)、校正前基準内が校正する事で逆に基準外となった試薬 3 試薬(試薬 B, D, E)、校正前後何れも基準外であった試薬が 1 試薬（試薬 C）であった。(別紙 8)

C8662 緩衝液②による校正後の相関性は相関係数 0.99～1.00、傾き 0.70～1.56、また傾き 0.9～1.1 範囲内は 5/9 試薬、同 0.8～1.2 範囲内は 6/9 試薬であった。目標値に対する傾き 0.9～1.1 を基準とすると、校正前後何れも基準内であった試薬が 4 試薬（試薬 G, H, I, J)、校正により基準内となった試薬 1 試薬（試薬 F)、校正前基準内が校正する事で逆に基準外となった試薬 3 試薬（試薬 B, D, E)、校正前後何れも基準外であった試薬が 1 試薬（試薬 C）であった。(別紙 9)

C8662 緩衝液①、C8662 緩衝液②共に WHO 84/510 による校正と同様、測定値の収束傾向は認められず、むしろ拡散傾向であった。

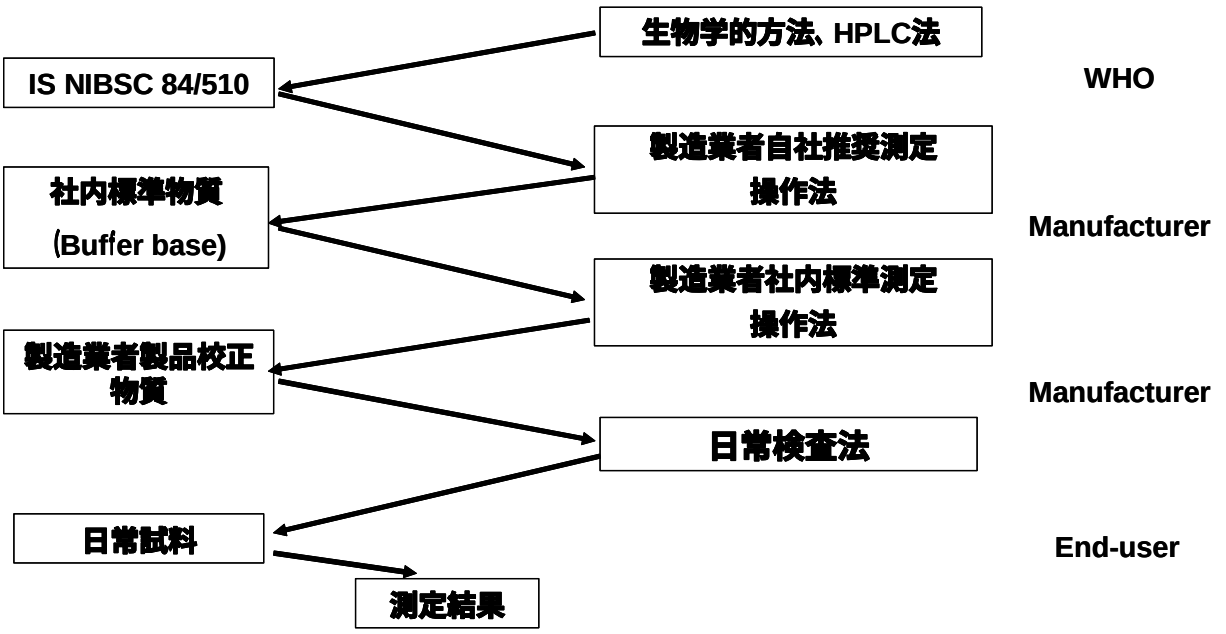
患者プール血清による校正では、相関係数 0.99～1.00、傾き 0.87～1.05、傾き 0.9～1.1 範囲内は 7/9 試薬であり、全試薬が傾き 0.8～1.2 範囲内であった。校正前後何れも基準内であった試薬は 5 試薬（試薬 B, G, H, I, J)、校正により基準内となった試薬 2 試薬（試薬 C, F)、校正前基準内が校正により逆に基準外となった試薬 2 試薬（試薬 D, E）であり、試薬により傾向は異なるが第 1 回共同実験とほぼ同等の校正効果が得られた。

WHO 84/510、患者プール血清どちらでも校正可能な試薬は第 1 回共同実験と同じ試薬（試薬 F, G, H, I, J）であった。(別紙 10)

５．実試料標準物質の作成プロトコル

５－１ トレーサビリティ連鎖

WHO(NIBSC 84/510)を最上位に位置付ける体系とした。しかし、今回の共同実験の結果で WHO(NIBSC 84/510)や市販純物質を用いた実試料標準物質では測定値の収束性を得ることは困難であった事から、校正効果が認められたプール血清を下位の標準物質とし、共同実験によりその値付けを行う体系とした。



５－２ 試料の性状規格

今後、設定する。

５－３ 値付けの方法

WHO(NIBSC 84/510)から直接値付け可能な試薬を共同実験により選択し、その試薬の平均値を実試料標準物質の認証値とする。

６．今後の課題

平成 18 年度の研究において、実試料標準物質候補品を用いた共同実験を行い、その有効性について検証した。

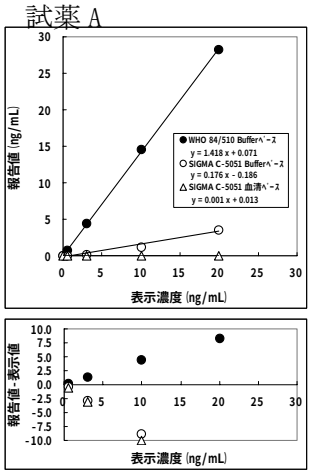
平成 19 年度は、これまでの結果をもとに実試料標準物質候補品作製のための本格的な作業を行う。実試料標準物質候補品での収束性を再確認するとともに、作製プロトコルの作業および基準測定操作法の設定を行う。

７．結び

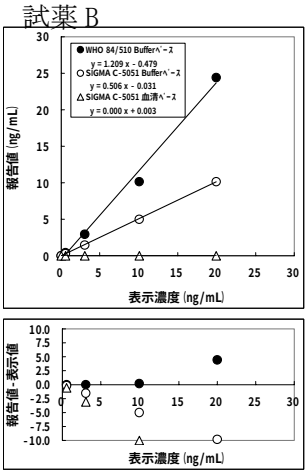
平成 18 年度の作業において、C-ペプチド実試料標準物質の候補品の選択を行い、その後の作業の方向性を定めた。平成 19 年度は残る課題を推し進め、実試料標準物質の作成プロトコルを完成させる。

別紙１　WHO 標準品および純物質の表示値に対する報告値

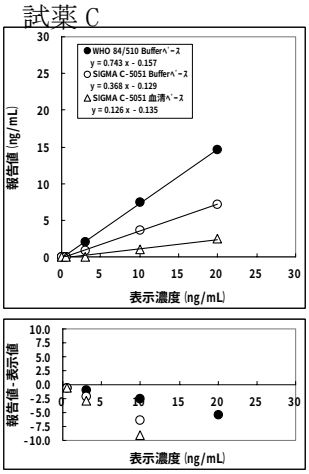
試薬 A



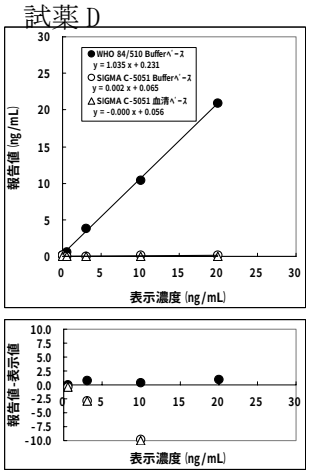
試薬 B



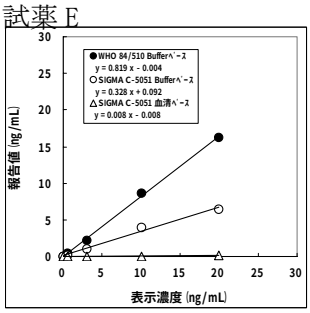
試薬 C

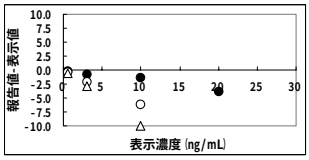


試薬 D

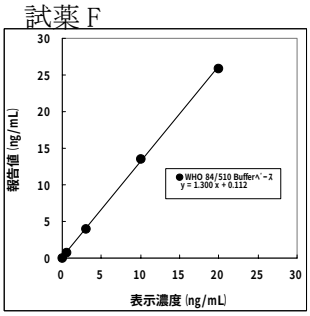


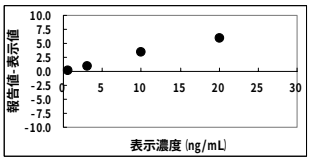
試薬 E



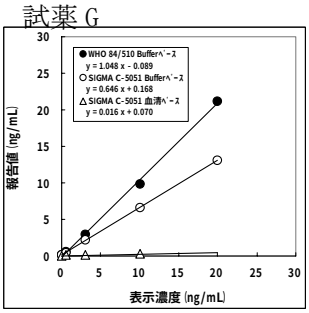


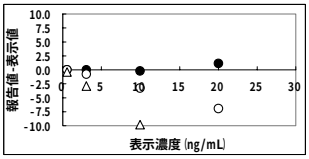
試薬 F



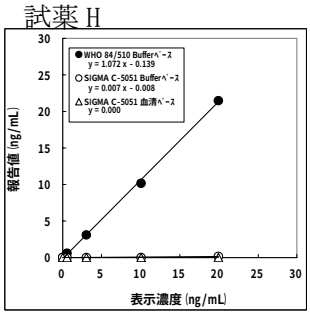


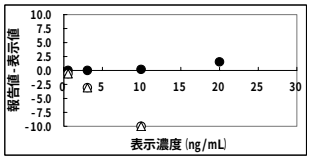
試薬 G



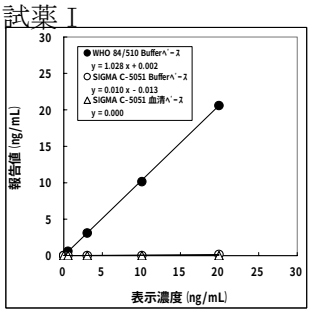


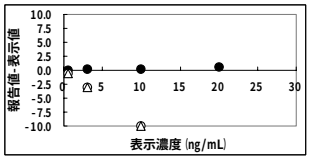
試薬 H



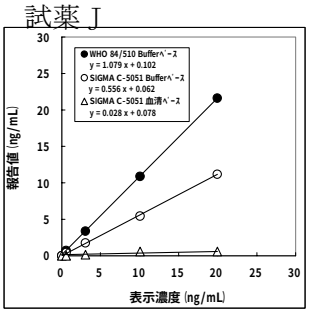


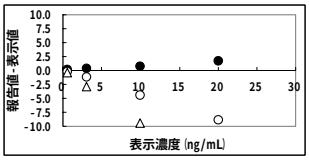
試薬 I





試薬 J



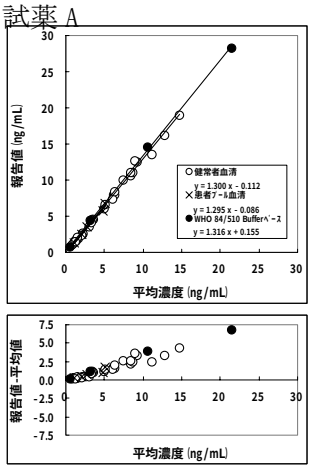


表示値に対する相関

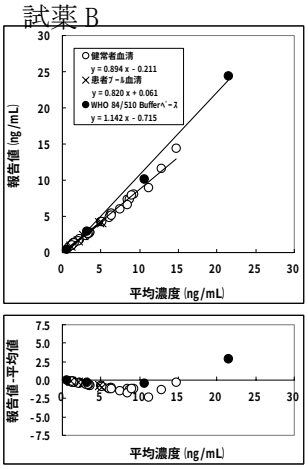
	WHO 84/510 Bufferﾍﾞｰｽ			SIGMA C-5051 Bufferﾍﾞｰｽ			SIGMA C-5051 血清ﾍﾞｰｽ		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A	1.00	1.42	0.07	0.99	0.18	−0.19	0.90	0.00	0.01
試薬B	1.00	1.21	−0.48	1.00	0.51	−0.03	0.96	0.00	0.00
試薬C	1.00	0.74	−0.16	1.00	0.37	−0.13	0.99	0.13	−0.14
試薬D	1.00	1.04	0.23	0.85	0.00	0.07	−0.11	0.00	0.06
試薬E	1.00	0.82	0.00	0.99	0.33	0.09	0.96	0.01	−0.01
試薬F	1.00	1.30	0.11	—	—	—	—	—	—
試薬G	1.00	1.05	−0.09	1.00	0.65	0.17	1.00	0.02	0.07
試薬H	1.00	1.07	−0.14	0.98	0.01	−0.01	—	0.00	0.00
試薬I	1.00	1.03	0.00	0.97	0.01	−0.01	—	0.00	0.00
試薬J	1.00	1.08	0.10	1.00	0.56	0.06	0.85	0.03	0.08
最小		0.74			0.00			0.00	
最大		1.42			0.65			0.13	

別紙２　平均値に対する報告値

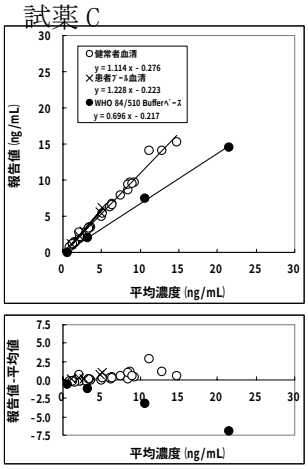
試薬 A



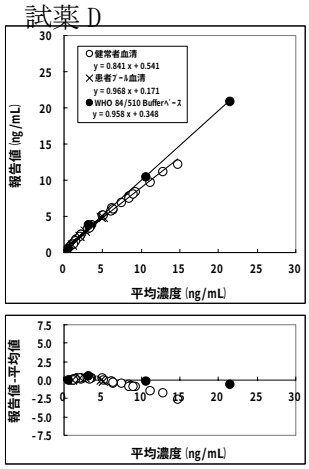
試薬 B



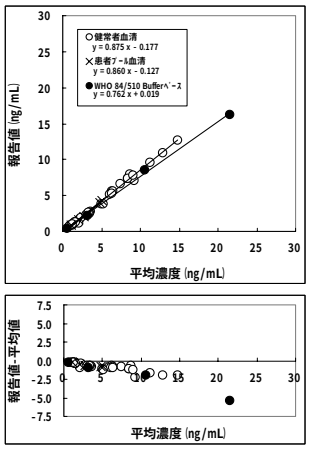
試薬 C



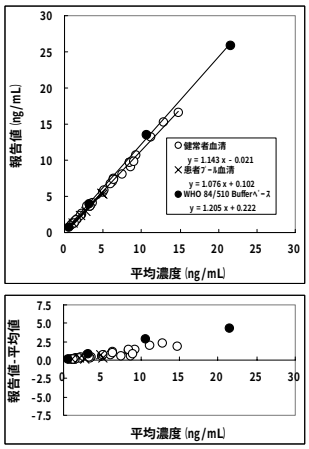
試薬 D



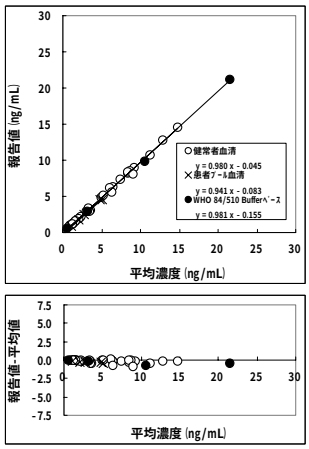
試薬 E



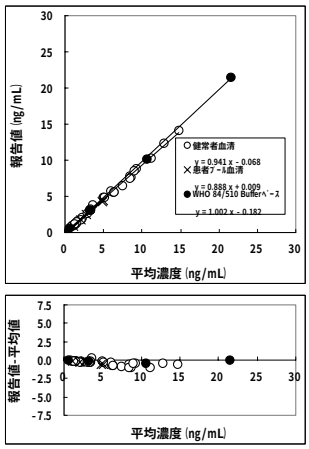
試薬 F



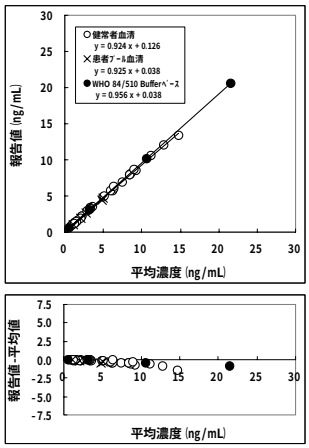
試薬 G



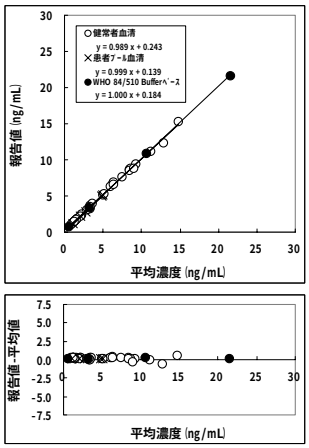
試薬 H

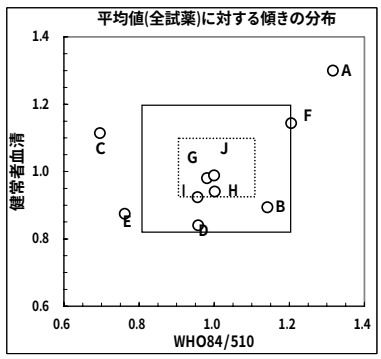


試薬 I



試薬 J



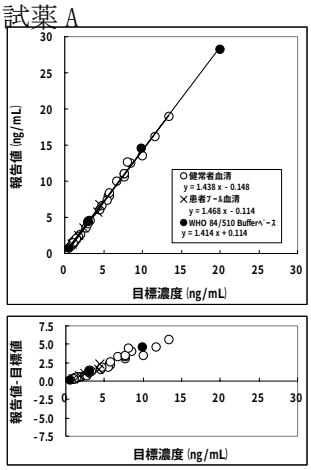


平均値に対する相関

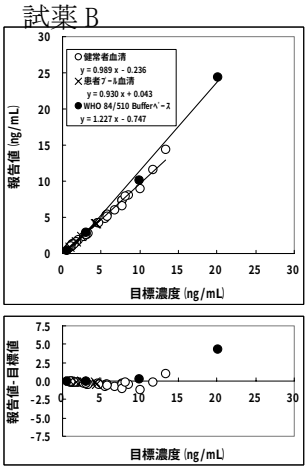
	WHO84/510			健常者血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A	1.00	1.32	0.15	1.00	1.30	−0.11
試薬B	1.00	1.14	−0.72	0.99	0.89	−0.21
試薬C	1.00	0.70	−0.22	0.99	1.11	−0.28
試薬D	1.00	0.96	0.35	1.00	0.84	0.54
試薬E	1.00	0.76	0.02	1.00	0.87	−0.18
試薬F	1.00	1.21	0.22	1.00	1.14	−0.02
試薬G	1.00	0.98	−0.16	1.00	0.98	−0.04
試薬H	1.00	1.00	−0.18	1.00	0.94	−0.07
試薬I	1.00	0.96	0.04	1.00	0.92	0.13
試薬J	1.00	1.00	0.18	1.00	0.99	0.24
最小		0.70			0.84	
最大		1.32			1.30	

別紙３　目標値に対する報告値

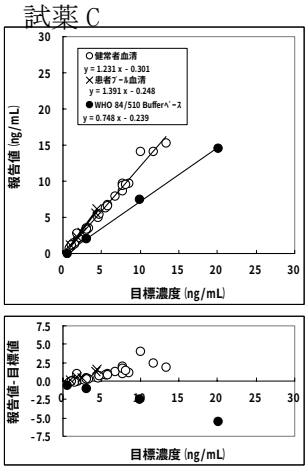
試薬 A



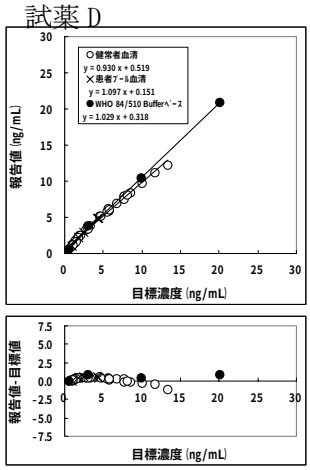
試薬 B



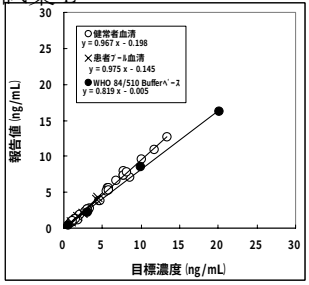
試薬 C

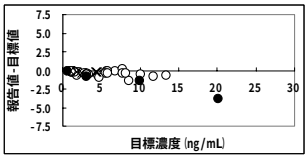


試薬 D

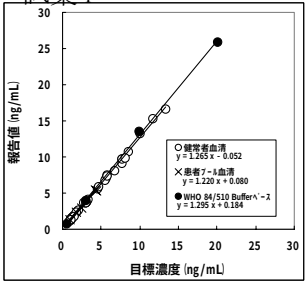


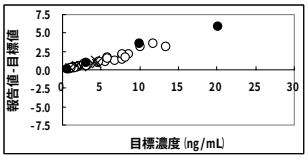
試薬 E



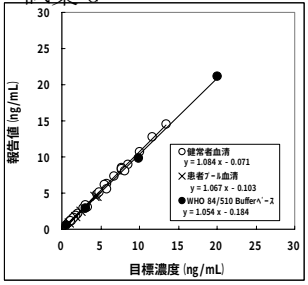


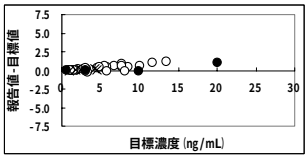
試薬 F



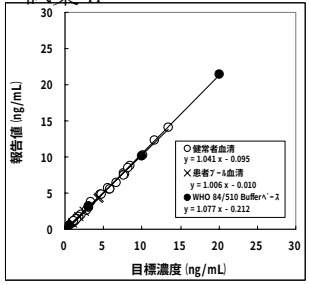


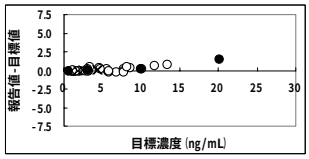
試薬 G



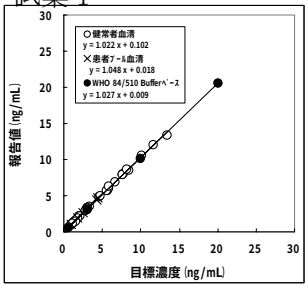


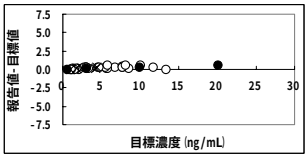
試薬 H



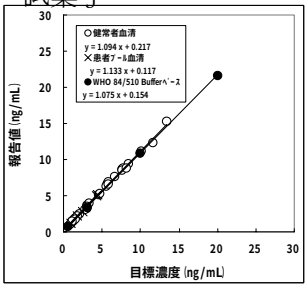


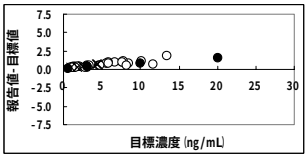
試薬 I

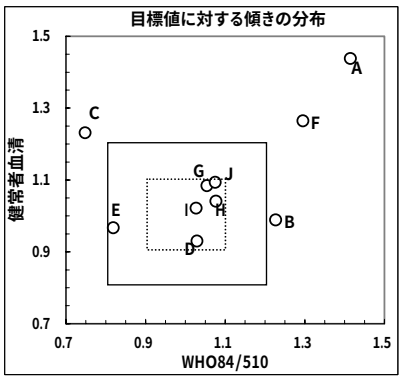




試薬 J





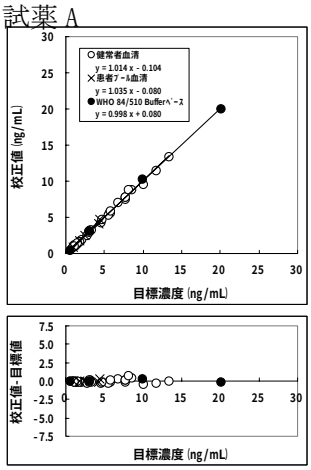


目標値に対する相関

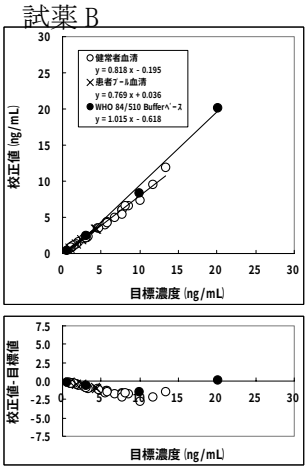
	WHO84/510			健常者血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A	1.00	1.41	0.11	1.00	1.44	−0.15
試薬B	1.00	1.23	−0.75	0.99	0.99	−0.24
試薬C	1.00	0.75	−0.24	0.99	1.23	−0.30
試薬D	1.00	1.03	0.32	1.00	0.93	0.52
試薬E	1.00	0.82	0.00	1.00	0.97	−0.20
試薬F	1.00	1.30	0.18	1.00	1.26	−0.05
試薬G	1.00	1.05	−0.18	1.00	1.08	−0.07
試薬H	1.00	1.08	−0.21	1.00	1.04	−0.09
試薬I	1.00	1.03	0.01	1.00	1.02	0.10
試薬J	1.00	1.07	0.15	1.00	1.09	0.22
最小		0.75			0.93	
最大		1.41			1.44	

別紙４　【WHO による校正】目標値に対する校正値

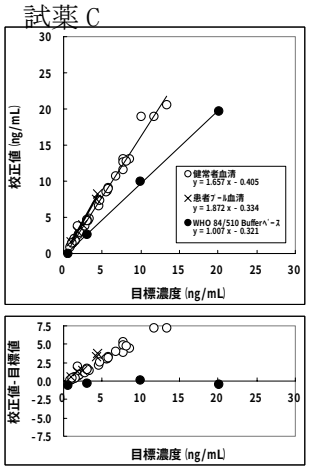
試薬 A



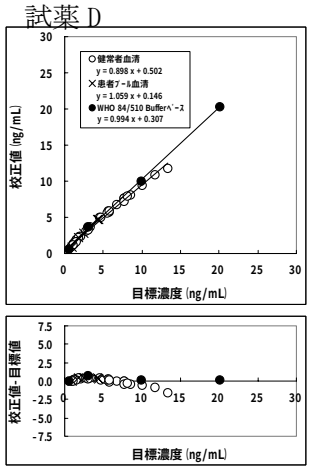
試薬 B



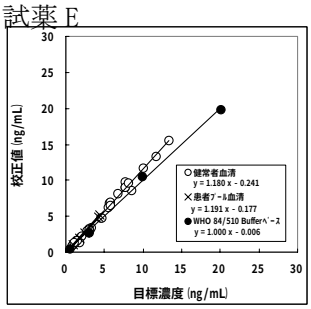
試薬 C

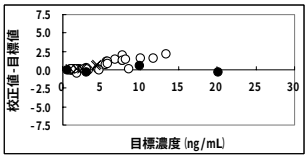


試薬 D

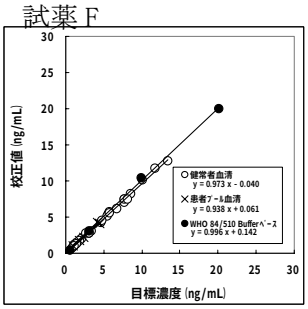


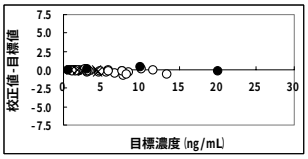
試薬 E



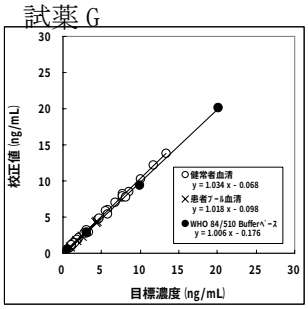


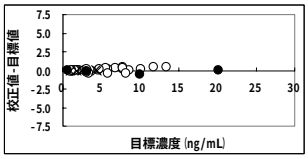
試薬 F



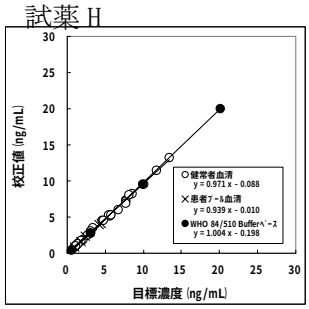


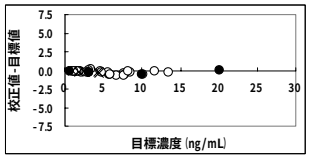
試薬 G



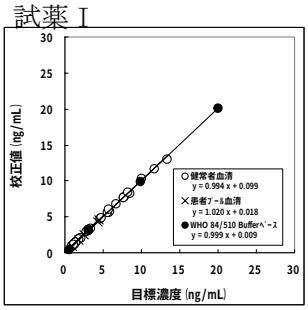


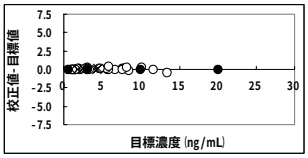
試薬 H



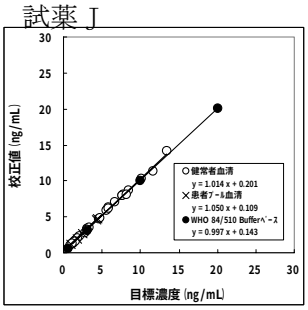


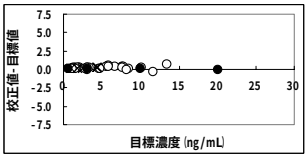
試薬 I

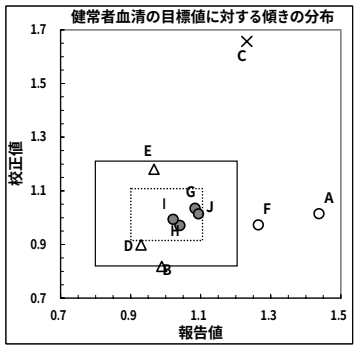




試薬 J







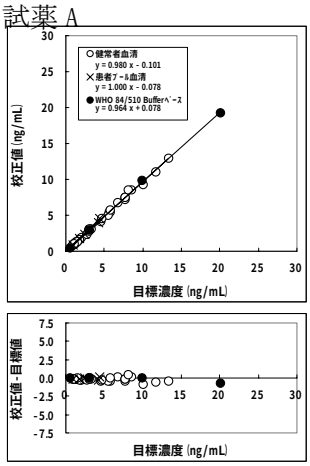
●：報告値、WHO 校正後共に目標値にあっている試薬　（試薬 G，H，I，J）
○：WHO 校正による効果が認められる試薬　（試薬 A，F）
△：WHO 校正により乖離する試薬　（試薬 B，D，E）
×：報告値、WHO 校正後共に乖離が認められる試薬　（試薬 C）

WHO校正値の目標値に対する傾き

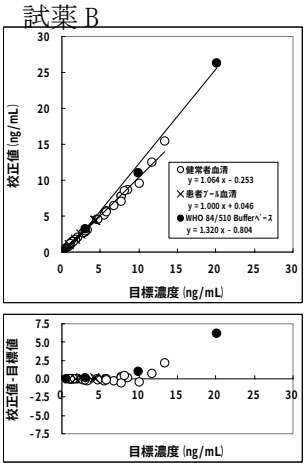
	WHO84/510			健常者血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A	1.00	1.00	0.08	1.00	1.01	−0.10
試薬B	1.00	1.01	−0.62	0.99	0.82	−0.19
試薬C	1.00	1.01	−0.32	0.99	1.66	−0.40
試薬D	1.00	0.99	0.31	1.00	0.90	0.50
試薬E	1.00	1.00	−0.01	1.00	1.18	−0.24
試薬F	1.00	1.00	0.14	1.00	0.97	−0.04
試薬G	1.00	1.01	−0.18	1.00	1.03	−0.07
試薬H	1.00	1.00	−0.20	1.00	0.97	−0.09
試薬I	1.00	1.00	0.01	1.00	0.99	0.10
試薬J	1.00	1.00	0.14	1.00	1.01	0.20
最小		0.99			0.82	
最大		1.01			1.66	

別紙５　【ﾌﾟｰﾙ血清による校正】目標値に対する校正値

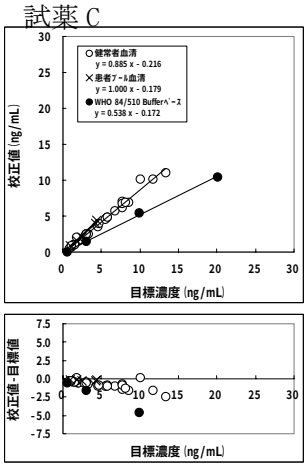
試薬 A



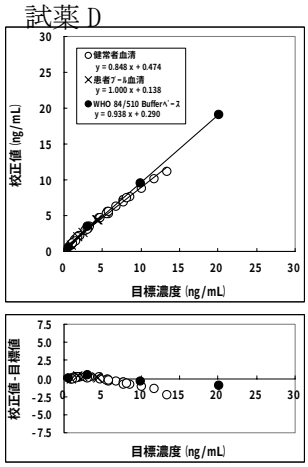
試薬 B



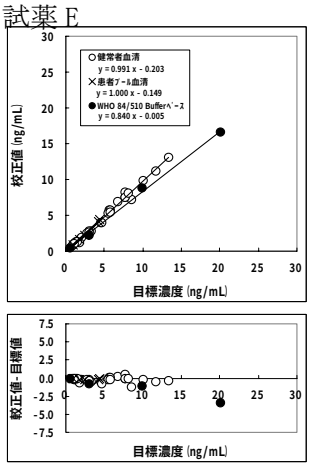
試薬 C



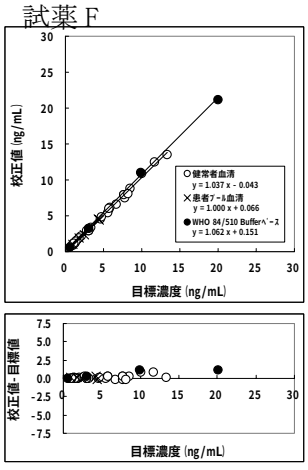
試薬 D



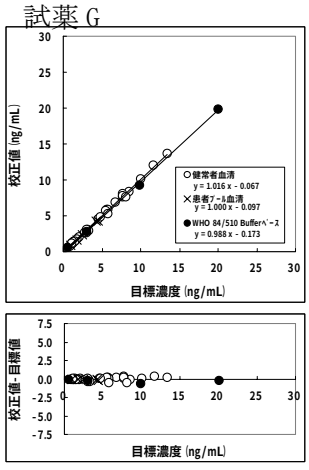
試薬 E



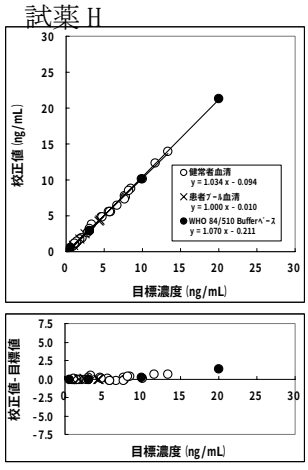
試薬 F



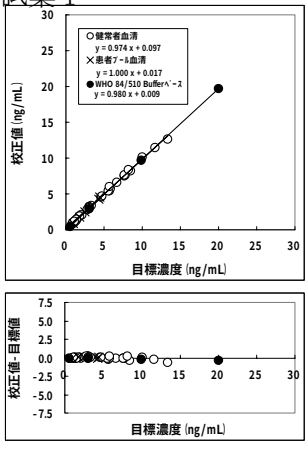
試薬 G



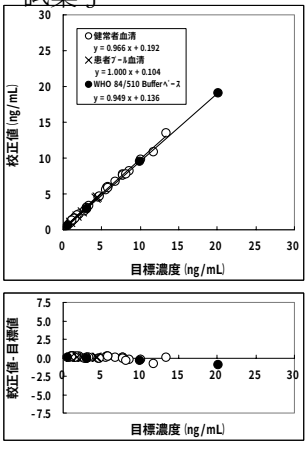
試薬 H

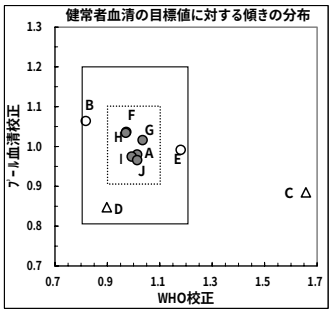


試薬 I



試薬 J





●：報告値、ﾌﾟｰﾙ血清校正後共に目標値にあっている試薬
（試薬 B，E，G，H，I，J）
○：ﾌﾟｰﾙ血清校正による効果が認められる試薬　（試薬 A，F）
△：ﾌﾟｰﾙ血清校正により乖離する試薬　（試薬 D）

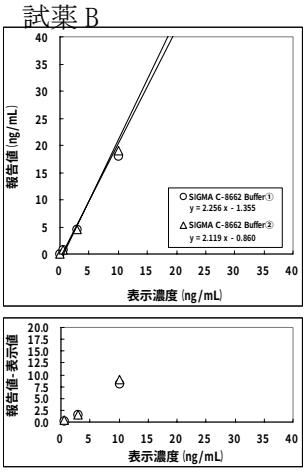
ﾌﾟｰﾙ血清校正値の目標値に対する傾き

	WHO84/510			健常者血清			ﾌﾟｰﾙ血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A	1.00	0.96	0.08	1.00	0.98	−0.10	0.99	1.00	−0.08
試薬B	1.00	1.32	−0.80	0.99	1.06	−0.25	1.00	1.00	0.05
試薬C	1.00	0.54	−0.17	0.99	0.89	−0.22	1.00	1.00	−0.18
試薬D	1.00	0.94	0.29	1.00	0.85	0.47	0.99	1.00	0.14
試薬E	1.00	0.84	0.00	1.00	0.99	−0.20	1.00	1.00	−0.15
試薬F	1.00	1.06	0.15	1.00	1.04	−0.04	1.00	1.00	0.07
試薬G	1.00	0.99	−0.17	1.00	1.02	−0.07	1.00	1.00	−0.10
試薬H	1.00	1.07	−0.21	1.00	1.03	−0.09	1.00	1.00	−0.01
試薬I	1.00	0.98	0.01	1.00	0.97	0.10	1.00	1.00	0.02
試薬J	1.00	0.95	0.14	1.00	0.97	0.19	1.00	1.00	0.10
最小		0.54			0.85			1.00	
最大		1.32			1.06			1.00	

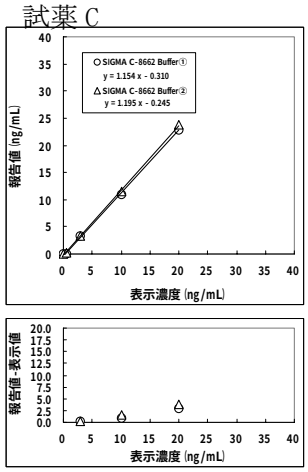
別紙６　純物質の表示値に対する報告値

試薬 A

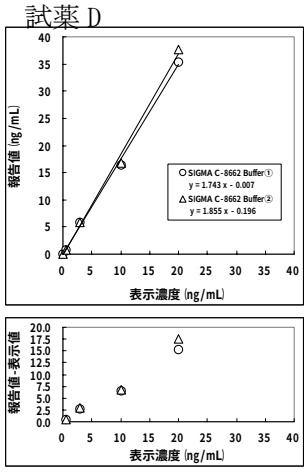
試薬 B



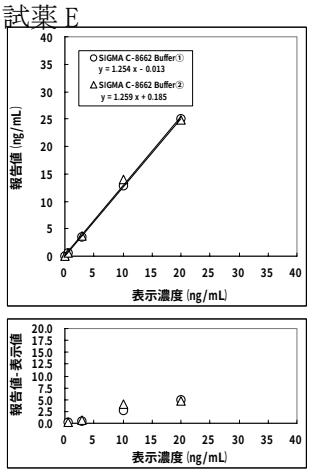
試薬 C



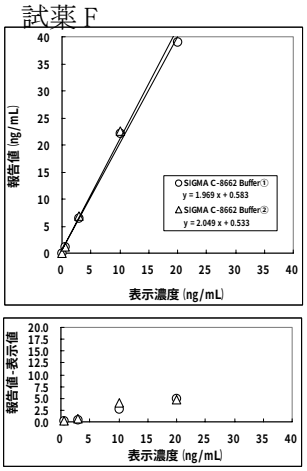
試薬 D



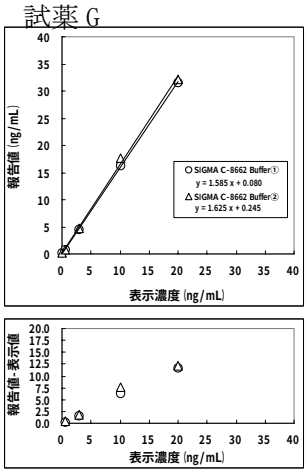
試薬 E



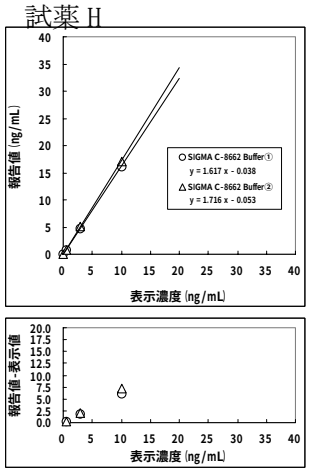
試薬 F



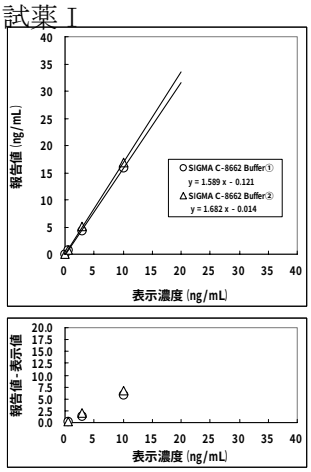
試薬 G



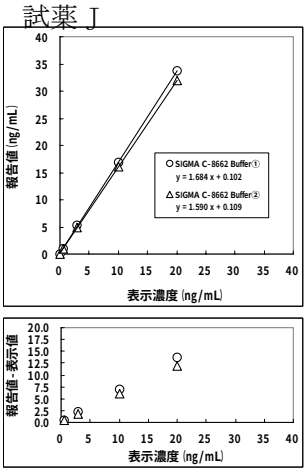
試薬 H



試薬 I



試薬 J



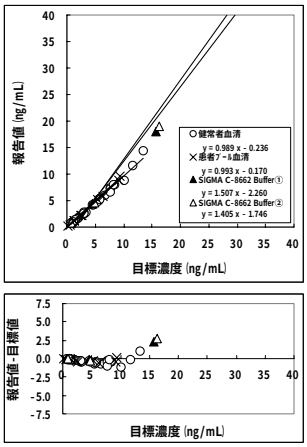
表示値に対する相関

	SIGMA C-8662 Buffer①			SIGMA C-8662 Buffer②		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A						
試薬B	0.99	2.26	-1.35	1.00	2.12	-0.86
試薬C	1.00	1.15	-0.31	1.00	1.20	-0.24
試薬D	1.00	1.74	-0.01	1.00	1.85	-0.20
試薬E	1.00	1.25	-0.01	1.00	1.26	0.18
試薬F	1.00	1.97	0.58	0.98	2.05	-2.14
試薬G	1.00	1.58	0.08	1.00	1.62	0.25
試薬H	1.00	1.62	-0.04	1.00	1.72	-0.05
試薬I	1.00	1.59	-0.12	1.00	1.68	-0.01
試薬J	1.00	1.68	0.10	1.00	1.59	0.11
最小		1.15			1.20	
最大		2.26			2.12	

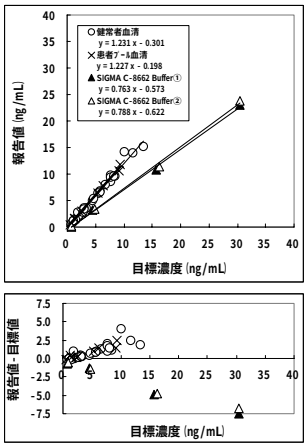
別紙７　目標値に対する報告値

試薬 A

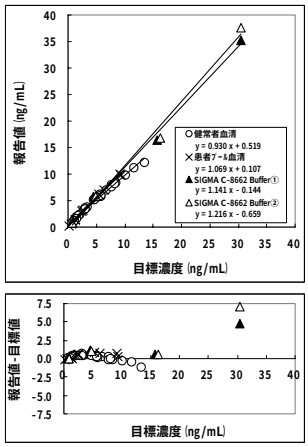
試薬 B



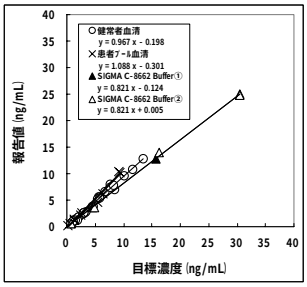
試薬 C

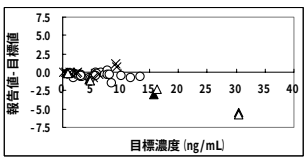


試薬 D

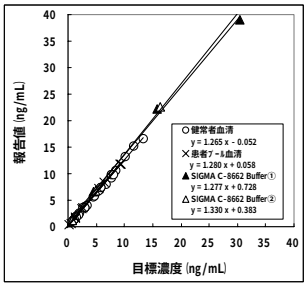


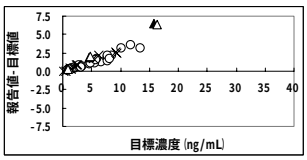
試薬 E



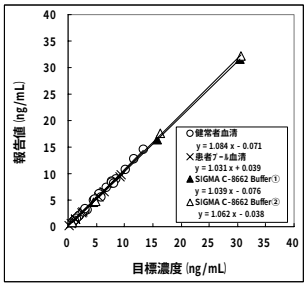


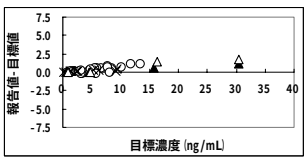
試薬 F



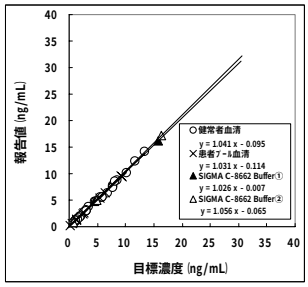


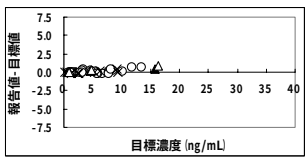
試薬 G



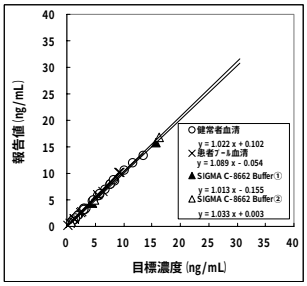


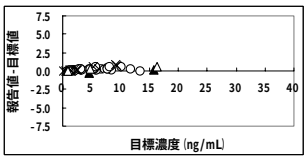
試薬 H



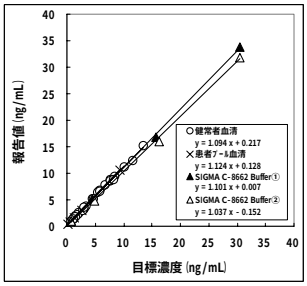


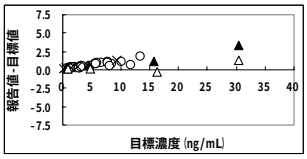
試薬 I

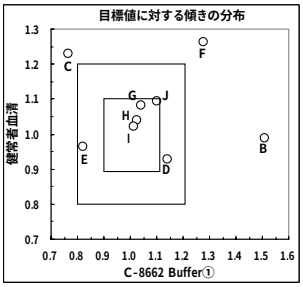


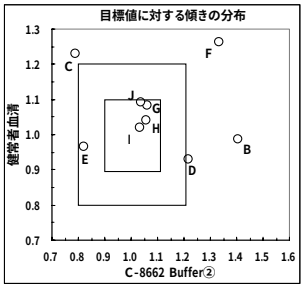


試薬 J









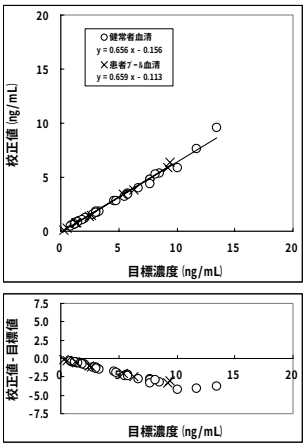
目標値に対する相関

	C-8662 Buffer①			C-8662 Buffer②			健常者血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A									
試薬B	0.99	1.51	-2.26	1.00	1.40	-1.75	0.99	0.99	-0.24
試薬C	1.00	0.76	-0.57	1.00	0.79	-0.62	0.99	1.23	-0.30
試薬D	1.00	1.14	-0.14	1.00	1.22	-0.66	1.00	0.93	0.52
試薬E	1.00	0.82	-0.12	1.00	0.82	0.01	1.00	0.97	-0.20
試薬F	1.00	1.28	0.73	1.00	1.33	0.38	1.00	1.26	-0.05
試薬G	1.00	1.04	-0.08	1.00	1.06	-0.04	1.00	1.08	-0.07
試薬H	1.00	1.03	-0.01	1.00	1.06	-0.06	1.00	1.04	-0.09
試薬I	1.00	1.01	-0.15	1.00	1.03	0.00	1.00	1.02	0.10
試薬J	1.00	1.10	0.01	1.00	1.04	-0.15	1.00	1.09	0.22
最小		0.76			0.79			0.93	
最大		1.51			1.40			1.26	

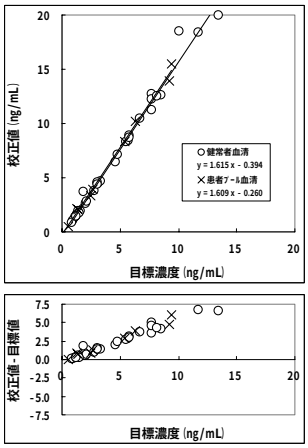
別紙８　【C8662 緩衝液①による校正】目標値に対する校正値

試薬 A

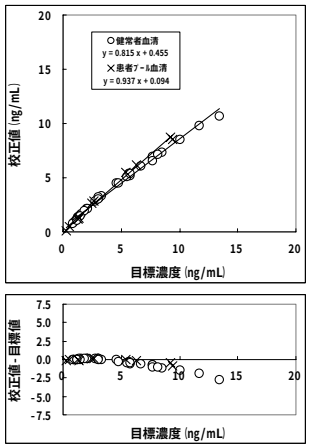
試薬 B



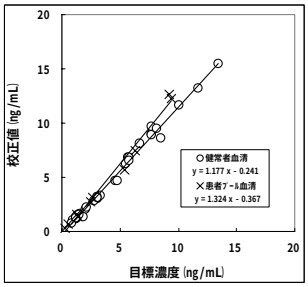
試薬 C

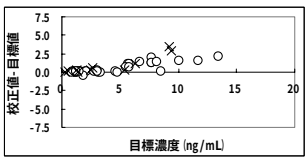


試薬 D

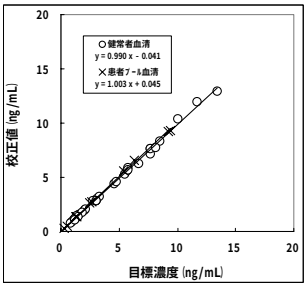


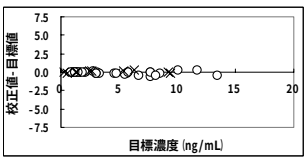
試薬 E



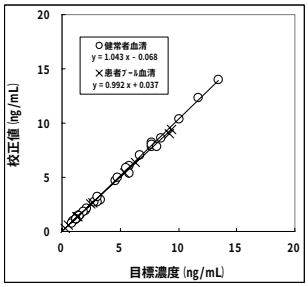


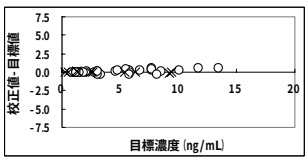
試薬 F



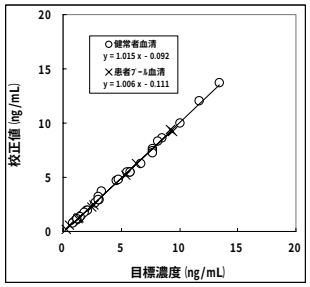


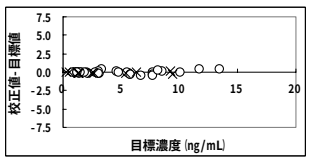
試薬 G



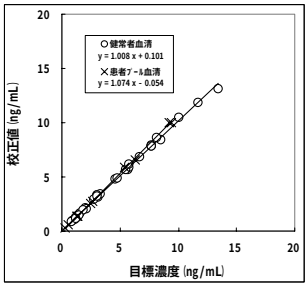


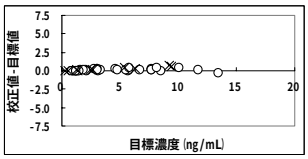
試薬 H



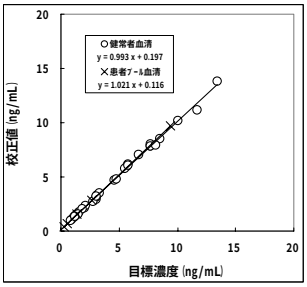


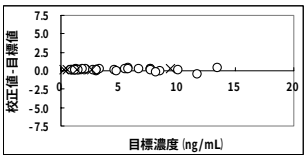
試薬 I

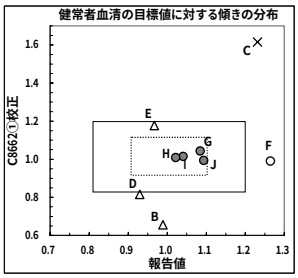




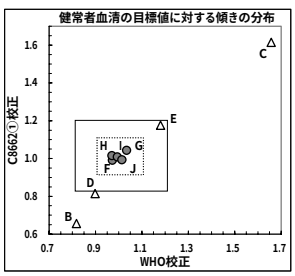
試薬 J







●：報告値、C8662 校正後共に目標値にあっている試薬(試薬 G，H，I，J)
○：ﾌﾟｰﾙ血清校正による効果が認められる試薬(試薬 F)
△：ﾌﾟｰﾙ血清校正により乖離する試薬(試薬 B，D，E)
×：報告値、ﾌﾟｰﾙ血清校正後共に乖離が認められる試薬(試薬 C)



●：WHO 標品、C8662①どちらでも校正可能な試薬(試薬 F，G，H，I，J)
○：WHO 標品では出来ないが、C8662①により校正可能な試薬(なし)
△：WHO 標品、ﾌﾟｰﾙ血清どちらでも完全には校正出来ない試薬(試薬 B，C，D，E)

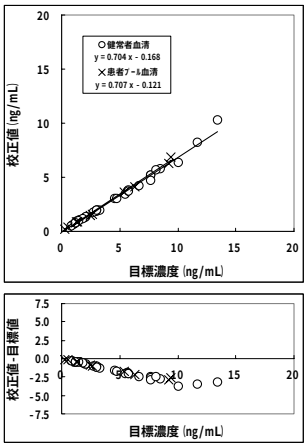
C8662buffer①校正後目標値に対する相関

	健常者血清			ﾌﾟｰﾙ血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A						
試薬B	0.99	0.66	−0.16	1.00	0.66	−0.11
試薬C	0.99	1.61	−0.39	1.00	1.61	−0.26
試薬D	1.00	0.81	0.46	1.00	0.94	0.09
試薬E	1.00	1.18	−0.24	0.99	1.32	−0.37
試薬F	1.00	0.99	−0.04	1.00	1.00	0.05
試薬G	1.00	1.04	−0.07	1.00	0.99	0.04
試薬H	1.00	1.01	−0.09	1.00	1.01	−0.11
試薬I	1.00	1.01	0.10	1.00	1.07	−0.05
試薬J	1.00	0.99	0.20	1.00	1.02	0.12
最小		0.66			0.66	
最大		1.61			1.61	

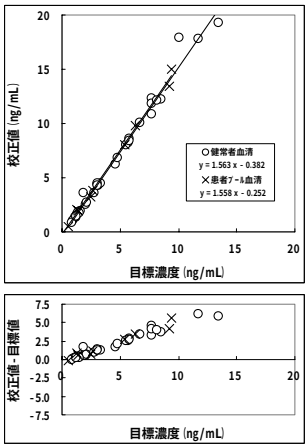
別紙 9　【C8662 緩衝液②による校正】目標値に対する校正値

試薬 A

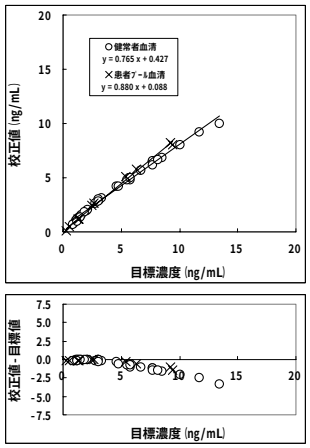
試薬 B



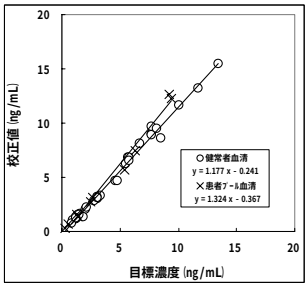
試薬 C

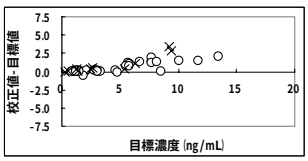


試薬 D

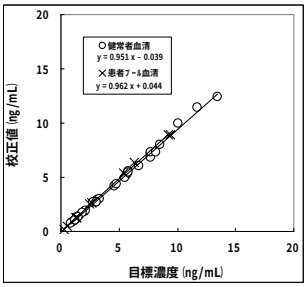


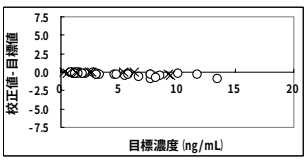
試薬 E



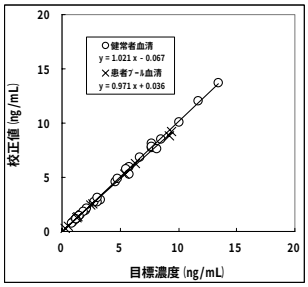


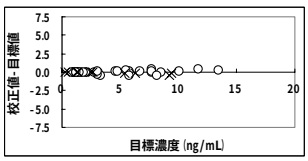
試薬 F



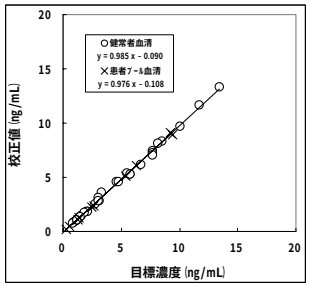


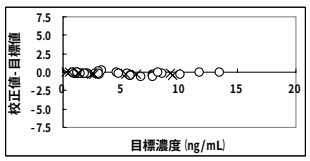
試薬 G



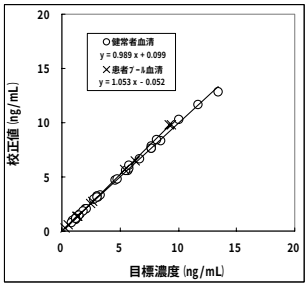


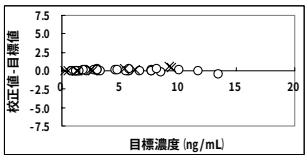
試薬 H



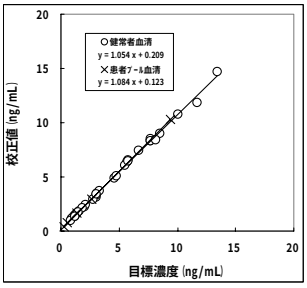


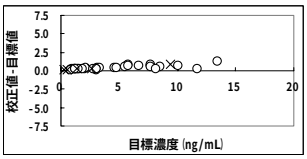
試薬 I

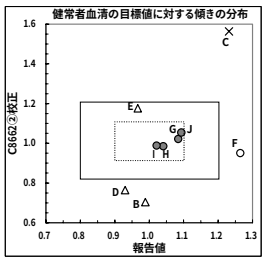




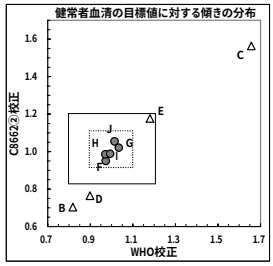
試薬 J







●：報告値、C8662 校正後共に目標値にあっている試薬(試薬 G，H，I，J)
○：ﾌﾟｰﾙ血清校正による効果が認められる試薬(試薬 F)
△：ﾌﾟｰﾙ血清校正により乖離する試薬(試薬 B，D，E)
×：報告値、ﾌﾟｰﾙ血清校正後共に乖離が認められる試薬(試薬 C)



●：WHO 標品、C8662①どちらでも校正可能な試薬(試薬 F，G，H，I，J)
○：WHO 標品では出来ないが、C8662②により校正可能な試薬(なし)
△：WHO 標品、ﾌﾟｰﾙ血清どちらでも完全には校正出来ない試薬(試薬 B，C，D，E)

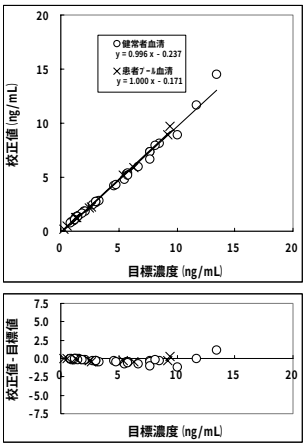
C8662buffer②校正後目標値に対する相関

	健常者血清			ﾌﾟｰﾙ血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A						
試薬B	0.99	0.70	-0.17	1.00	0.71	-0.12
試薬C	0.99	1.56	-0.38	1.00	1.56	-0.25
試薬D	1.00	0.76	0.43	1.00	0.88	0.09
試薬E	1.00	1.18	-0.24	0.99	1.32	-0.37
試薬F	1.00	0.95	-0.04	1.00	0.96	0.04
試薬G	1.00	1.02	-0.07	1.00	0.97	0.04
試薬H	1.00	0.99	-0.09	1.00	0.98	-0.11
試薬I	1.00	0.99	0.10	1.00	1.05	-0.05
試薬J	1.00	1.05	0.21	1.00	1.08	0.12
最小		0.70			0.71	
最大		1.56			1.56	

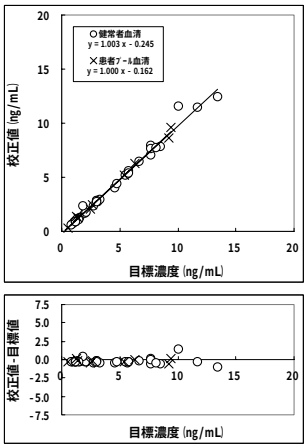
別紙 10　【ﾌﾟｰﾙ血清による校正】目標値に対する校正値

試薬 A

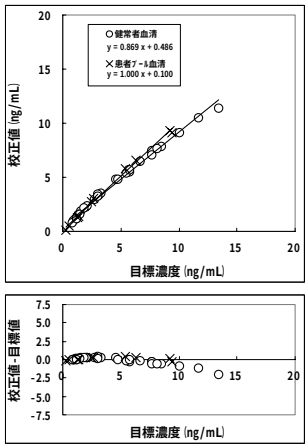
試薬 B



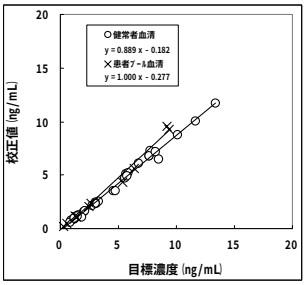
試薬 C

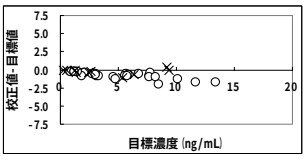


試薬 D

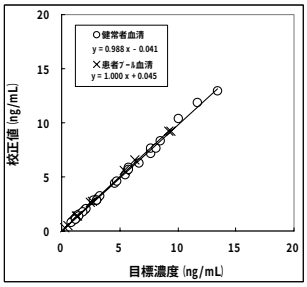


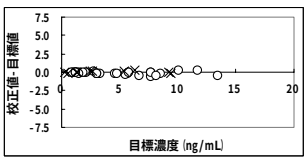
試薬 E



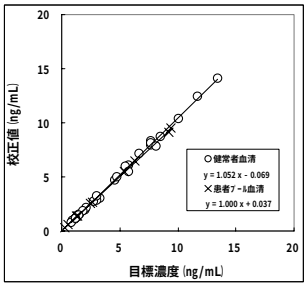


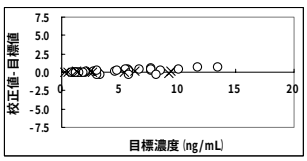
試薬 F



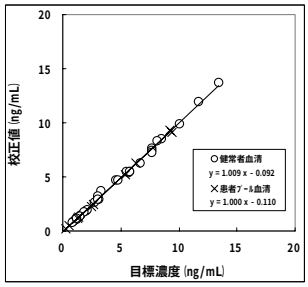


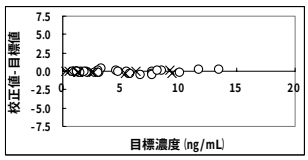
試薬 G



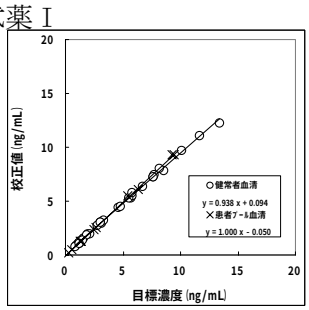


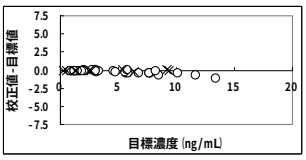
試薬 H



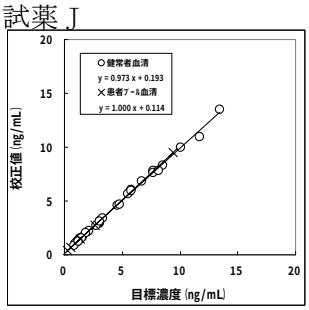


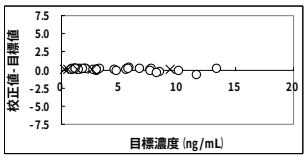
試薬 I

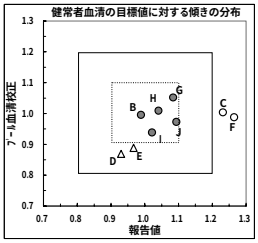




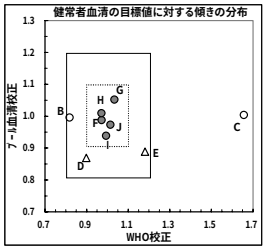
試薬 J







●：報告値、ﾌﾟｰﾙ血清校正後共に目標値にあっている試薬(試薬 B, G, H, I, J)
○：ﾌﾟｰﾙ血清校正による効果が認められる試薬(試薬 C, F)
△：ﾌﾟｰﾙ血清校正により乖離する試薬(試薬 D, E)



●：WHO 標品、ﾌﾟｰﾙ血清どちらでも校正可能な試薬(試薬 F, G, H, I, J)
○：WHO 標品では出来ないが、ﾌﾟｰﾙ血清により校正可能な試薬(試薬 B, C)
△：WHO 標品、ﾌﾟｰﾙ血清どちらでも完全には校正出来ない試薬(試薬 D, E)

ﾌﾟｰﾙ血清校正後目標値に対する相関

	健常者血清			ﾌﾟｰﾙ血清		
	r	傾き	切片	r	傾き	切片
試薬A						
試薬B	0.99	1.00	-0.24	1.00	1.00	-0.17
試薬C	0.99	1.00	-0.24	1.00	1.00	-0.16
試薬D	1.00	0.87	0.49	1.00	1.00	0.10
試薬E	1.00	0.89	-0.18	0.99	1.00	-0.28
試薬F	1.00	0.99	-0.04	1.00	1.00	0.05
試薬G	1.00	1.05	-0.07	1.00	1.00	0.04
試薬H	1.00	1.01	-0.09	1.00	1.00	-0.11
試薬I	1.00	0.94	0.09	1.00	1.00	-0.05
試薬J	1.00	0.97	0.19	1.00	1.00	0.11
最小		0.87			1.00	
最大		1.05			1.00	

2－2－3－12 コルチゾール

要旨

1) 血清中のコルチゾール測定について、データの収束性を可能とするための実試料標準物質の作製について検討した。
2) 実試料標準物質を探索する目的で 4 種類の市販純物質、東ソー社コルチゾール測定キットキャリブレーターを標準物質候補として共同実験を実施し、各メーカーキット間の測定値収束性への校正効果を検討した。
3) 各標準物質候補品を用いて校正した結果、各キット間の測定値は拡散傾向にあり、有用性は見出せなかった。
4) 今後は共同実験により値付けしたプール血清を用い、実試料標準物質候補品としてデータ収束の有効な手段となりうるか検証することが望まれる。

１．目的

コルチゾール測定におけるトレーサビリティ体系の構築および測定値の互換性を確保することを目標として、コルチゾール実試料標準物質の作製を目的とする。

尚、ステロイド剤の測定値に与える影響については本 WG では扱わず、各測定キット添付文書の記載に順ずる。

２．委員会の構成

本委員会は、実試料系標準物質項目群の柱 1JSWG で、メンバー構成を下記に記す。

委員長	桑　克彦（筑波大学）
	千葉　光一（(独)産業技術総合研究所）
アドバイザー	富永　真琴（山形大学）
	武井　泉（慶應義塾大学）
	森下　芳孝（三重大学）
運営管理者	松川　岳久（アークレイ㈱）
委員	浅田　一（あすか製薬㈱）
	小林　隆（栄研化学㈱）
	阪崎　伸一郎（栄研化学㈱）
	田野倉　修（㈱テイエフビー）
	滝本　徹雄（オーソ・クリニカルダイアグノスティックス（株）
	林　司（㈱カイノス）
	竹中　英樹（協和メデックス㈱）
	大石　久泰（協和メデックス㈱）
	斉藤　憲祐（デイドベーリング㈱）
	誉田　大仁（三洋化成工業㈱）
	牧　浩司（東ソー㈱）

高橋　進（日本シェーリング（株））
真子　千枝（日本ビオメリュー㈱）
葉山 優（富士レビオ㈱）
月本　あつ子（ベックマン・コールター㈱）
下川　洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
菊池　孝志（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
事務局　藤橋　和夫（日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第6回会合　2006年4月17日（月）11:00～15:00（KSPホテル会議室）
第7回会合　2006年6月26日（月）15:00～17:00(臨床検査薬協会会議室）
第8回会合　2006年7月12日（水）13:00～15:00（臨床検査薬協会会議室）
第9回会合　2006年8月21日（月）13:00～15:00（臨床検査薬協会会議室）
第10回会合　2006年11月13日（月）15:00～17:00（臨床検査薬協会会議室）
第11回会合　2006年12月6日（水）15:00～17:30（臨床検査薬協会会議室）
第12回会合　2007年1月8日（木）15:00～17:00（臨床検査薬協会会議室）

４．標準物質の設定概要

４－１　実験計画書

平成17年度成果報告書「臨床検査用標準物質の研究開発」インスリン、C-ペプチド、コルチゾールの項に準じる

４－２　共同実験

４－２－１　測定試料

① IRMM ERM-DA451：34パネル　凍結血清
② IRMM ERM-DA192：1濃度（表示値 9.88μg/dL）　凍乾ヒト血清
③ IRMM ERM-DA193：1濃度（表示値27.7μg/dL）　凍乾ヒト血清
④ IRMM ERM-DA470:1濃度　凍乾ヒト血清
⑤ NIST SRM921：1試料　純品
　1) BufferにSRM 921を溶解
　　0, 0.3, 3, 10, 30μg/dLに調整
　2) コルチゾールフリー血清にSRM 921を溶解
　　0, 0.3, 3, 10, 30μg/dLに調整
⑥ SIGMA H4001：1試料　純品
　　コルチゾールフリー血清にSIGMA H4001を溶解
　　0, 0.3, 3, 10, 30μg/dLに調整
⑦ 患者プール血清：第1回共同実験5検体
　　第2回共同実験5検体

⑧ 東ソー株式会社製キャリブレーター：6 濃度

４－２－２　測定方法

測定キット

企業名	測定試薬名	共同実験	
		第 1 回	第 2 回
東ソー㈱	E ﾃｽﾄ「TOSOH」II (ｺﾙﾁｿﾞｰﾙ)	○	○
ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ㈱	ｴｸﾙｰｼｽ試薬ｺﾙﾁｿﾞｰﾙ	○	○
ﾍﾞｯｸﾏﾝ･ｺｰﾙﾀｰ㈱	ｱｸｾｽ ｺﾙﾁｿﾞｰﾙ	○	○
栄研化学㈱	ｺﾙﾁｿﾞｰﾙ‘栄研’	○	○
ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｽｸ㈱	ﾋﾞﾄﾛｽｺﾙﾁｿﾞｰﾙ	○	
日本ｼｪｰﾘﾝｸﾞ㈱	日本ｼｪｰﾘﾝｸﾞ㈱	○	

キット毎のキャリブレーターで校正した後試料、検体測定。

NIST SRM921 バッファーベースは 5 重測定、その他試料は 2 重測定し、 集計値は平均値を使用する。

４－２－３　測定結果

第 1 回共同実験

① IRMM ERM-DA451 34 パネル血清、及び患者プール血清での相関確認

IRMM ERM-DA451 パネル血清を用い、X 軸に全キットの平均値、Y 軸に各キットの測定値としたときの相関係数は 0.922～0.991、相関回帰式の傾きは 0.81～1.3 の範囲となり（図 1)、各キット測定値の CV は 11.5%～28.3%であった（表１)。

又、プール血清 5 検体のうち測定レンジオーバーを除く 4 検体を用い、X 軸を全キットの平均値、Y 軸を各キットの測定値としたときの相関係数は 0.997～1.000、相関回帰式の傾きは 0.82～1.19 の範囲となり（図 2)、各キット測定値の CV は 14.6%～28.9%であった（表１)。

現状調査結果の患者試料での相関関係における相関係数 0.94～0.98、相関回帰式の傾き 0.83～1.20 とほぼ同等の結果が得られた。

② 各純品試料測定値から標準物質候補品の検討

標準物質候補品としてコルチゾール純品 NIST SRM921Buffer ベース、NIST SRM921 血清ベース、SIGMA H4001 血清ベースのそれぞれを各キットで測定し、それぞれの調整濃度を X 軸、各キットの測定値を Y 軸としたときの相関係数、相関回帰式の傾きは、NIST SRM921Buffer ベースで相関係数 0.996～1.000、傾き 0.59～1.34（図 3)、NIST SRM921 血清ベースで相関係数 0.999～1.000、傾き 0.76～1.11（図 4)、SIGMA H4001 血清ベースで相関係数 0.998～1.000、傾き 0.77～1.13 の範囲となり（図 5)、各キット測定値の CV は NIST SRM921Buffer ベースで 23.6%～63.9%、NIST SRM921 血清ベースで 13.6%～

26.0%、SIGMA H4001 血清ベースで 16.2%～38.5%であった（表１）。

この結果、各キットの測定値が最も収束している NIST SRM921 血清ベースを標準物質候補品として選択し、今後の検討に用いる校正品として選択した。

③ NIST SRM921 血清ベースによる校正の検討

NIST SRM921 血清ベースの調整濃度を X 軸、各キットの測定値を Y 軸としたときの相関回帰式をそれぞれの測定キットにおける各試料の校正係数とし、IRMM ERN-DA451 パネル血清及び患者プール血清の各キット測定値を校正した。

校正前の全キット平均値をX軸､校正後各キット測定値をY軸としたときの相関係数、相関回帰式の傾きは、IRMM ERN-DA451 パネル血清で相関係数 0.922～0.991、傾き 0.96～1.27（図 6)、プール血清で相関係数 0.997～1.000、傾き 0.95～1.41 の範囲となり（図 7)、各キット測定値の CV は、IRMM ERN-DA451 パネル血清で 9.4%～28.7%、プール血清で 15.8%～34.5%であった（表 2)。

この結果、キット毎のキャリブレーターによる測定値のほうが NIST SRM921 血清ベースで校正するより各キット間のばらつきが小さいことが確認され、標準物質による校正効果は認められなかった。

④ IRMM ERMDA192/193 による校正の検討

IRMM ERMDA192/193 それぞれの表示値と各キット測定値の比をとり、その平均値を各試料の校正係数とし、IRMM ERN-DA451 パネル血清及び患者プール血清の各キット測定値を校正した。

校正前の全キット平均値をX軸､校正後各キット測定値をY軸としたときの相関係数、相関回帰式の傾きは、IRMM ERN-DA451 パネル血清で相関係数 0.922～0.991、傾き 0.65～1.50（図 8)、プール血清で相関係数 0.997～1.000、傾き 0.66～1.26 の範囲となり（図 9)、各キット測定値の CV は、IRMM ERM-DA451 パネル血清で 25.8%～39.8%、プール血清で 31.2%～46.1%であった（表 3)。

この結果、キット毎のキャリブレーターによる測定値のほうが IRMM ERMDA192/193 で校正するより各キット間のばらつきが小さいことが確認され、標準物質による校正効果は認められなかった。

第 2 回共同実験

① 東ソー社製キャリブレーターによる校正の検討

新たな標準物質候補品として、ヒト血清ベースでありかつ多点で用いている東ソー社コルチゾール測定キットのキャリブレーターを各キットで測定した。各キット測定値の CV は 19.9%～31.1%となり（表 4)、同時に測定したプール血清 5 検体のうち測定下限値以下を除く 4 検体の測定値 CV9.0%～16.4%よりばらつきが大きくなり（表 5)、標準物質としての校正効果は期待できない結果となった。

② IRMM ERMDA192/193 による校正の検討

第 1 回共同実験で得られた IRMM ERMDA192/193 それぞれの表示値と各キット測定値の比をとり、その平均値を各試料の校正係数とし、第 2 回共同実験で得られた患者プール

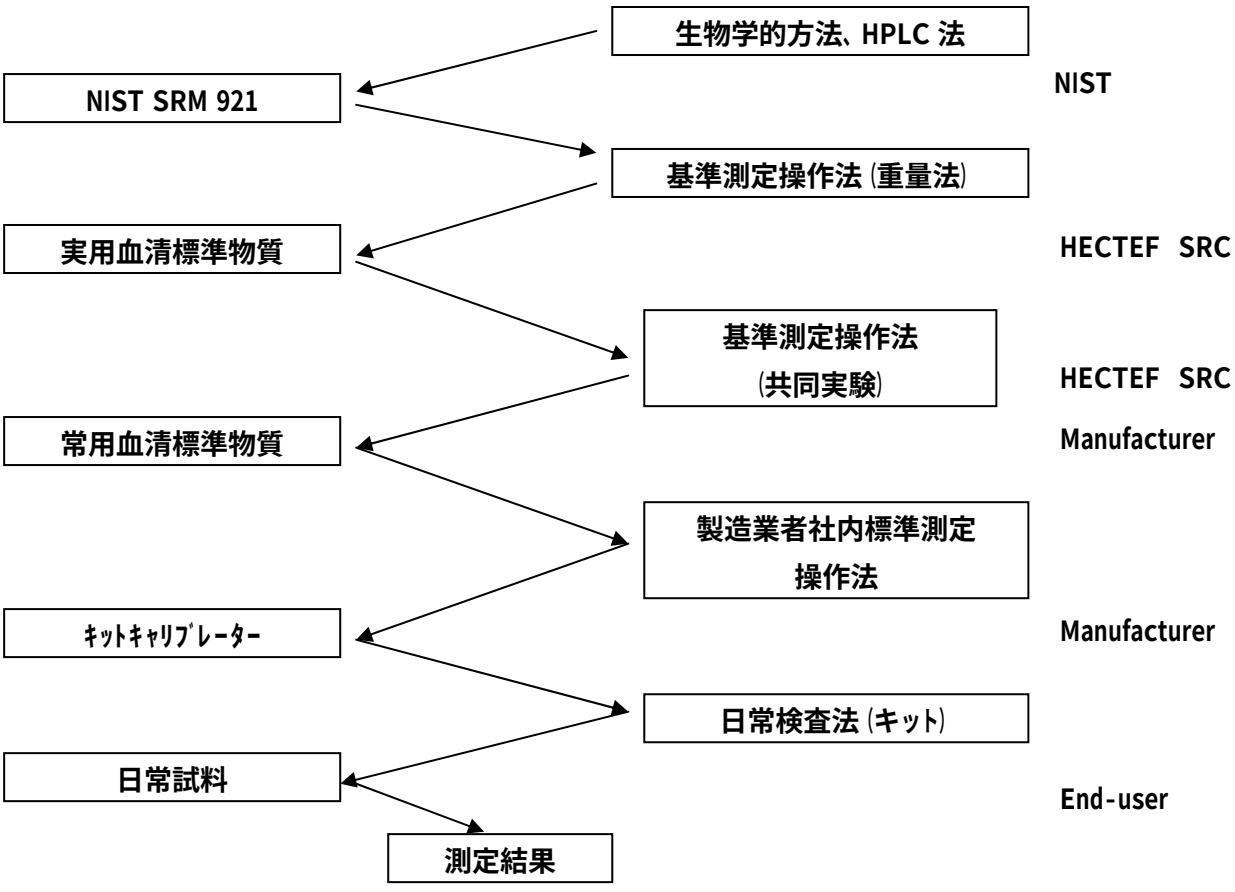
血清 5 検体について各キット測定値を校正した。校正前の全キット平均値を X 軸、各キット測定値を Y 軸としたときの相関係数は 0.998～0.999、傾き 0.84～1.08 の範囲となり（図 10)、各キット測定値の CV は 9.0%～16.4%であった（表 5）のに対し、校正前の全キット平均値を X 軸、校正後各キット測定値を Y 軸としたときの相関係数は 0.998～0.999、相関回帰式の傾きは 0.86～1.18 の範囲となり（図 9)、各キット測定値の CV は 17.4%～26.2%であった（表 6)。

この結果、キット毎のキャリブレーターによる測定値のほうが IRMM ERMDA192/193 で校正するより各キット間のばらつきが小さいことが確認され、校正効果は認められず、標準物質としてそのまま用いることは困難であることが確認された。

一方、一部のキットでは IRMM ERMDA192/193 の表示値と測定値が非常に近似あるいは挙動が一致することが確認された（図 10)。このため、これら純品を血清ベースとした実用標準物質に対して、値の一致するキット及び校正可能なキットを用いた共同実験によりプール血清を値付けし、常用血清標準物質として各キットを校正可能であることが示唆された。

5. 実試料標準物質の作製プロトコル

5－1 トレーサビリティ連鎖



５－２　試料の性状規格

今後設定する。

５－３　値付けの方法

今後設定する。

６．今後の課題

プール血清を用いた各キットによるコルチゾールの測定値は第 1 回共同実験で CV14.6%～28.9%、第 2 回共同実験で CV9.0%～16.4%という結果が得られ、現状コルチゾール測定キットのデータ収束性に関する実態が明確となり、更なる収束が必要と考えられた。

データの収束を可能とするため、4 種類の市販純物質、及び東ソー社コルチゾール測定キットキャリブレーターを実試料標準物質候補品とし、各キットでの校正を試みた。血清ベースと緩衝液ベースでは各キットでの測定値のばらつきが小さいことから標準物質候補品としては血清ベースの方が適しているという結果が得られた。しかし、今回選択したどの実試料標準物質候補品を用いてもキット間の測定値は拡散傾向にあり、有用性を見出すことはできなかった。このため、今回の実試料標準物質候補品を用いて標準化することは困難であると考えられた。

一方、一部のキットでは今回選択した標準物質候補品と測定値が近似、あるいは挙動が一致するものがあることから、これら純品を重量法にて値付け、血清ベースへ添加し、最も値が一致するキット及び校正可能なキットを用いた共同実験によりプール血清を値付けし、そのプール血清を用いて各キットを校正可能であることが示唆され、実試料標準物質としてデータ収束の有効な手段となりうるか検証するのが望ましいと考えられた。

図1) IRMM ERM-DA451 パネル血清全キット平均値と各キット測定値相関

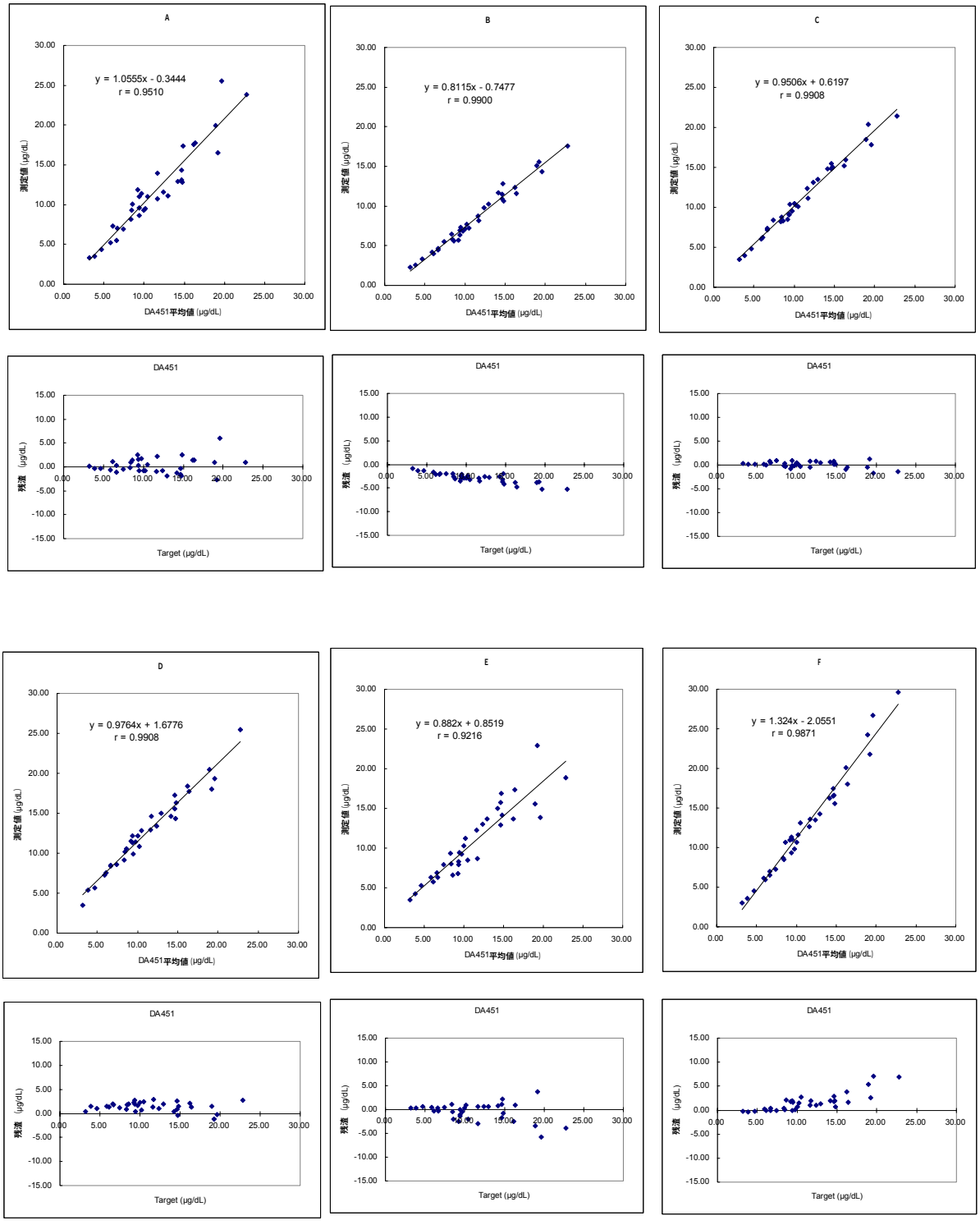


図2) プール血清平均値と各キット測定値相関

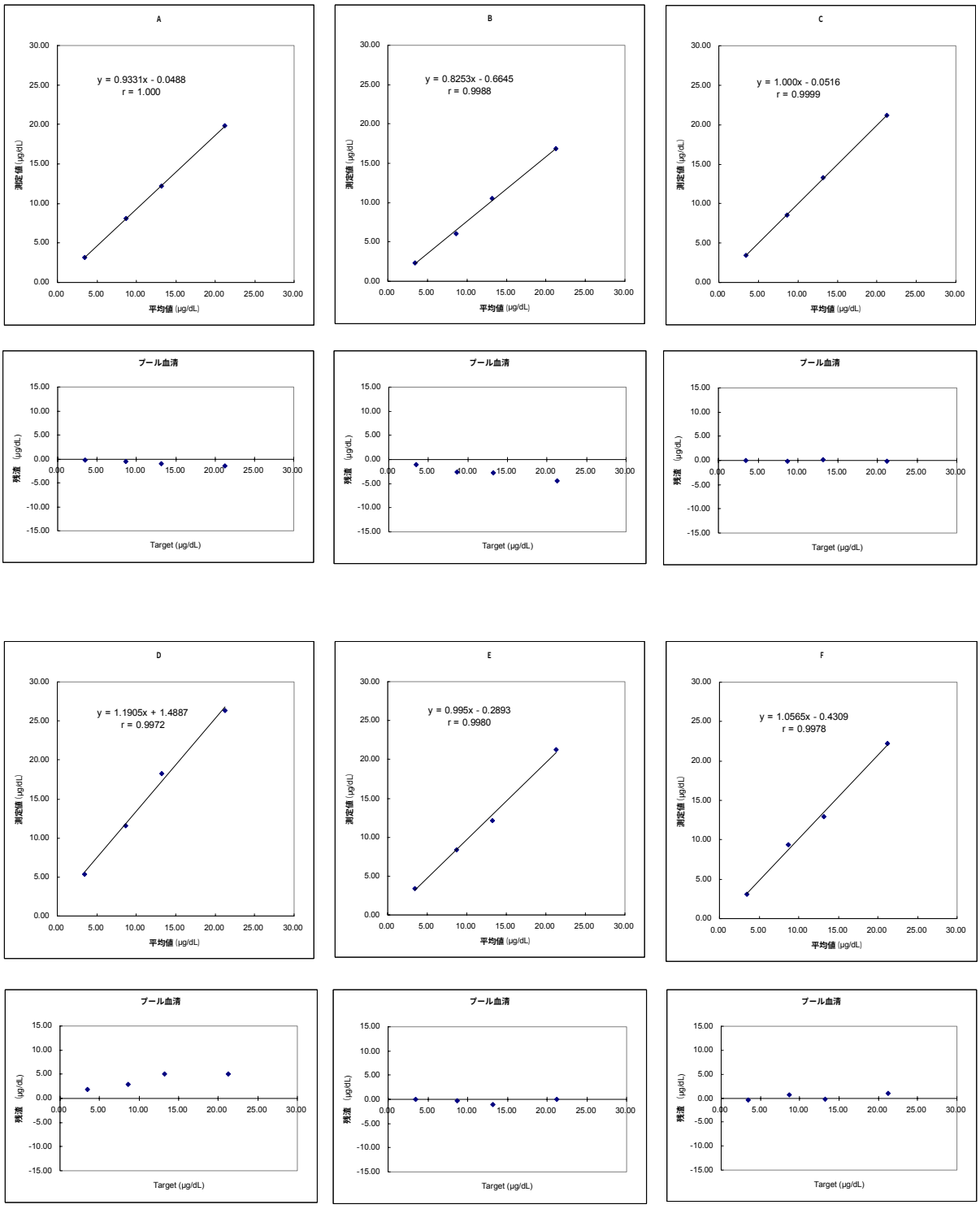


図3) NIST SRM921 ﾊﾞｯﾌｧｰﾍﾞｰｽ表示値と各キット測定値相関

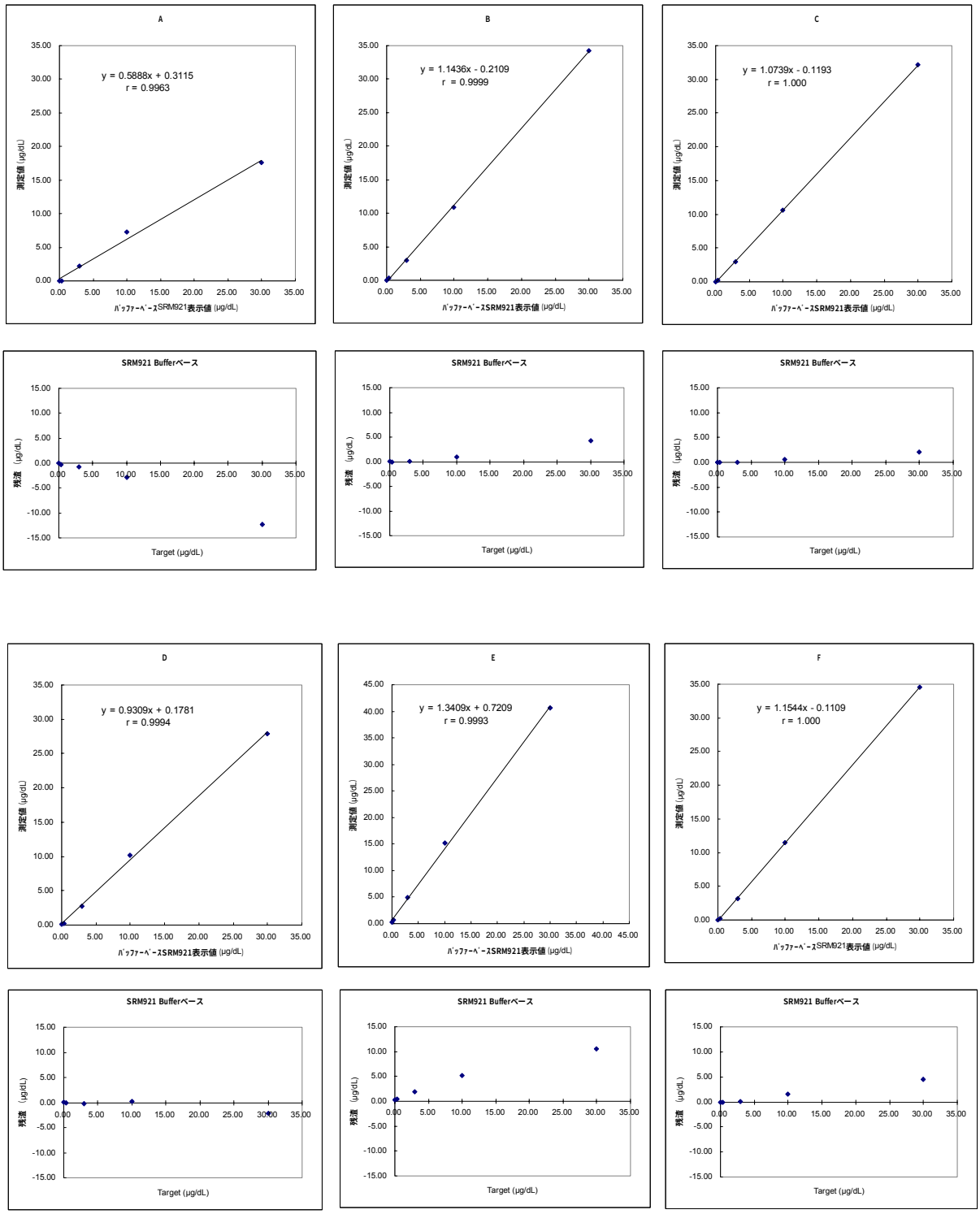


図4) NIST SRM921 血清ﾍﾞｰｽ表示値と各キット測定値相関

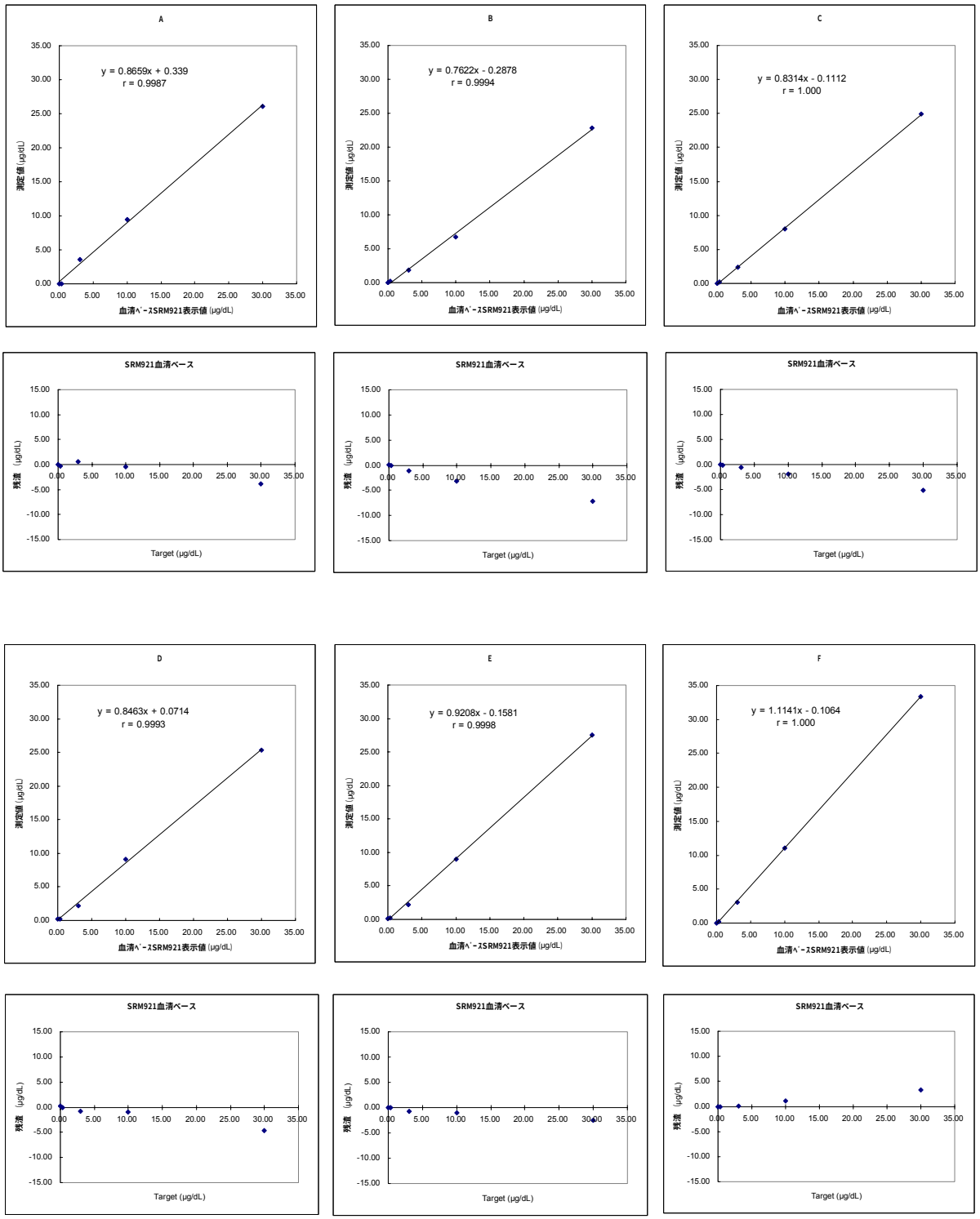


図5) SIGMA H4001 血清ﾍﾞｰｽ表示値と各キット測定値相関

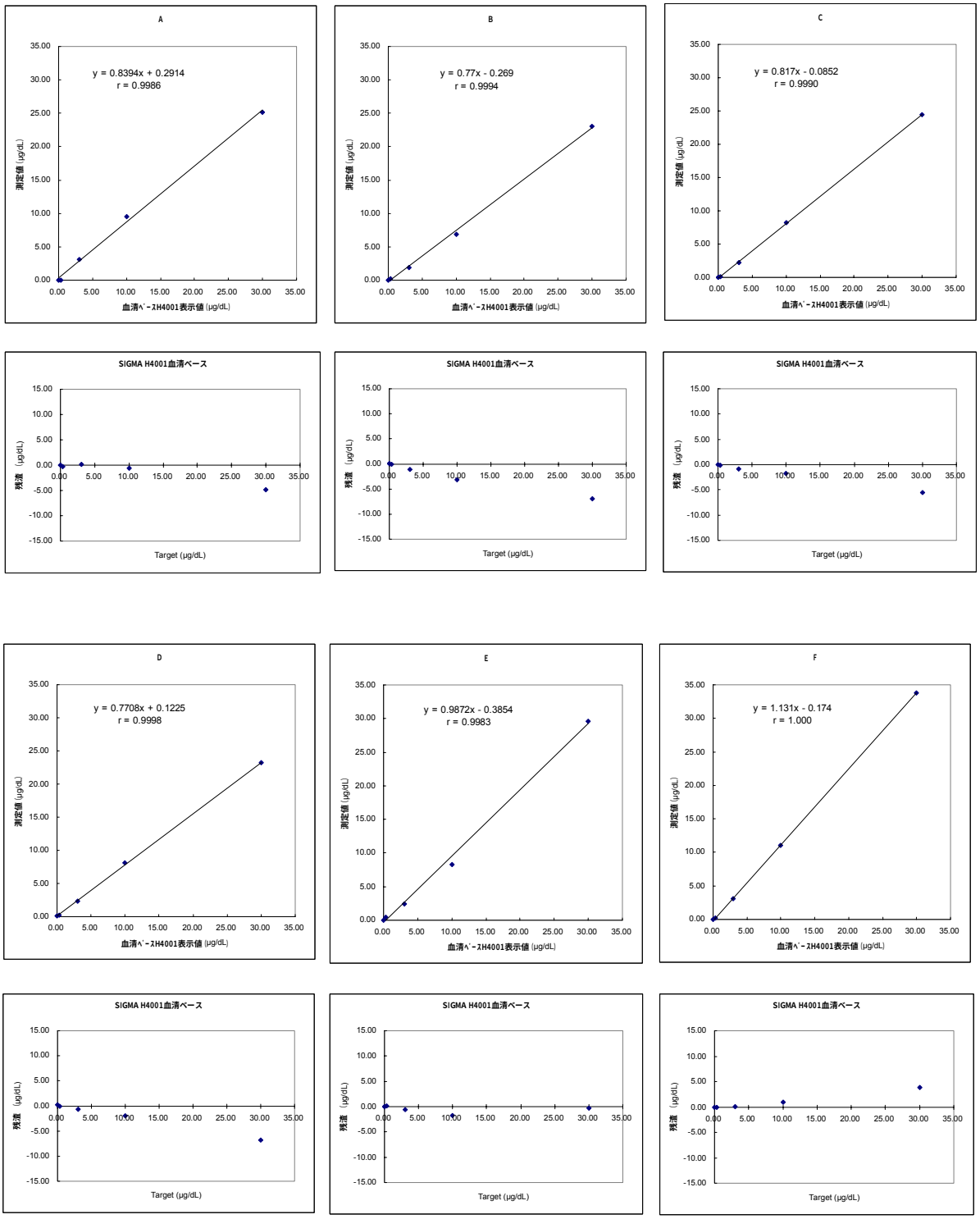


表1) 各種試料 表示値、報告値集計

試料名	表示値 (μg/dL)	A	B	C	D	E	F	報告値平均 (μg/dL)	SD	CV (%)
コルチゾール 純品NIST SRM 921 Bufferベース	0	1.25以下	0.04	<0.2	0.14	0.23	<0.018	-	ー	ー
コルチゾール 純品NIST SRM 921 Bufferベース	0.3	1.25以下	0.29	0.23	0.25	0.76	0.26	0.36	0.23	63.9
コルチゾール 純品NIST SRM 921 Bufferベース	3.0	2.21	3.01	2.95	2.75	4.87	3.13	3.15	0.90	28.6
コルチゾール 純品NIST SRM 921 Bufferベース	10	7.22	10.90	10.61	10.16	15.23	11.53	10.94	2.58	23.6
コルチゾール 純品NIST SRM 921 Bufferベース	30	17.63	34.23	32.12	27.91	40.57	34.51	31.16	7.79	25.0
コルチゾール 純品NIST SRM 921 血清ベース	0	1.25以下	0.00	<0.2	0.17	0.06	<0.018	-	ー	ー
コルチゾール 純品NIST SRM 921 血清ベース	0.3	1.25以下	0.17	0.18	0.22	0.27	0.25	0.22	0.04	18.2
コルチゾール 純品NIST SRM 921 血清ベース	3.0	3.60	1.83	2.34	2.20	2.22	3.06	2.54	0.66	26.0
コルチゾール 純品NIST SRM 921 血清ベース	10	9.50	6.77	8.04	9.10	9.03	11.08	8.92	1.44	16.1
コルチゾール 純品NIST SRM 921 血清ベース	30	26.09	22.78	24.89	25.32	27.51	33.32	26.65	3.62	13.6
コルチゾール 純品Sigma H 4001 血清ベース	0	1.25以下	0.01	<0.2	0.15	0.06	<0.018	-	ー	ー
コルチゾール 純品Sigma H 4001 血清ベース	0.3	1.25以下	0.19	0.15	0.27	0.42	0.25	0.26	0.10	38.5
コルチゾール 純品Sigma H 4001 血清ベース	3.0	3.15	1.88	2.20	2.30	2.43	3.04	2.5	0.50	20.0
コルチゾール 純品Sigma H 4001 血清ベース	10	9.47	6.88	8.20	8.09	8.28	10.99	8.65	1.41	16.3
コルチゾール 純品Sigma H 4001 血清ベース	30	25.18	23.03	24.40	23.17	29.65	33.82	26.54	4.31	16.2
コルチゾール IRMM ERMDA 192	9.88	9.21	7.54	10.06	11.16	9.98	11.11	9.84	1.35	13.7
コルチゾール IRMM ERMDA 193	27.7	23.30	23.24	28.31	27.33	28.80	31.64	27.1	3.30	12.2
IRMM ERM-DA470		11.66	≧61.6	12.13	13.25	12.66	15.73	-	-	-
コルチゾール:患者プール血清1		3.20	2.35	3.41	5.33	3.43	3.05	3.46	1.00	28.9
コルチゾール:患者プール血清2		8.08	6.08	8.53	11.57	8.40	9.37	8.67	1.79	20.6
コルチゾール:患者プール血清3		12.17	10.52	13.28	18.20	12.16	12.90	13.2	2.62	19.8
コルチゾール:患者プール血清4		19.83	16.84	21.16	26.33	21.23	22.18	21.26	3.10	14.6
コルチゾール:患者プール血清5		80以上	≧61.6	182.96	184.13	＞60.8	>63.44	-	ー	ー
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-1		13.95	8.15	11.14	14.59	8.68	13.63	11.69	2.80	24.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-2		14.34	10.93	14.85	17.26	12.94	17.50	14.64	2.52	17.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-3		9.60	6.94	9.04	11.37	7.92	11.31	9.36	1.78	19.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-4		5.19	4.21	6.03	7.31	6.35	6.13	5.87	1.06	18.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-5		10.98	7.25	10.13	12.84	8.50	13.14	10.47	2.34	22.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-6		10.02	5.56	8.28	10.55	6.60	10.63	8.6	2.16	25.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-7		17.60	12.32	15.21	18.39	13.72	20.05	16.21	2.96	18.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-8		5.47	4.50	7.36	8.52	6.93	7.02	6.63	1.43	21.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-9		11.83	5.74	8.51	11.56	6.77	10.97	9.23	2.61	28.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-10		10.97	6.35	9.19	12.13	8.27	9.33	9.37	2.03	21.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-11		11.09	10.25	13.49	14.96	13.65	14.25	12.95	1.86	14.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-12		9.27	7.14	10.44	12.20	10.28	10.64	9.99	1.69	16.9
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-13		17.78	11.54	15.96	17.77	17.34	18.04	16.41	2.50	15.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-14		25.58	14.37	17.81	19.33	13.88	26.70	19.61	5.47	27.9
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-15		11.42	6.84	9.54	11.42	9.25	9.79	9.71	1.69	17.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-16		9.34	5.79	8.77	10.16	7.98	8.50	8.42	1.49	17.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-17		17.39	10.64	14.99	16.31	14.11	15.56	14.83	2.34	15.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-18		7.29	4.01	6.19	7.51	5.78	5.97	6.12	1.26	20.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-19		7.00	4.66	7.14	8.41	6.30	6.52	6.67	1.23	18.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-20		3.33	2.31	3.47	3.51	3.50	3.03	3.19	0.47	14.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-21		3.55	2.57	3.99	5.34	4.25	3.56	3.88	0.91	23.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-22		6.96	5.47	8.36	8.61	7.93	7.28	7.43	1.15	15.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-23		13.13	11.48	15.45	15.59	15.74	16.49	14.65	1.92	13.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-24		12.89	11.64	14.83	14.67	15.00	16.20	14.2	1.64	11.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-25		11.60	9.77	13.08	13.36	12.99	13.45	12.38	1.44	11.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-26		8.17	6.42	8.21	9.17	9.37	8.69	8.34	1.06	12.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-27		16.47	15.54	20.40	18.05	22.95	21.78	19.2	2.98	15.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-28		10.71	8.76	12.34	12.97	12.26	12.66	11.62	1.60	13.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-29		9.45	7.70	10.31	10.90	11.18	11.65	10.2	1.44	14.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-30		4.41	3.31	4.83	5.62	5.27	4.50	4.66	0.80	17.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-31		23.82	17.61	21.40	25.49	18.84	29.65	22.8	4.47	19.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-32		19.90	15.06	18.50	20.46	15.52	24.23	18.94	3.41	18.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-33		8.66	7.27	10.35	9.88	9.44	11.01	9.43	1.33	14.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-34		12.79	12.83	15.02	14.34	16.87	16.61	14.74	1.77	12.0

図6) IRMM ERM-DA451 パネル全キット平均値と各キット測定値相関 SRM921血清ベース校正後

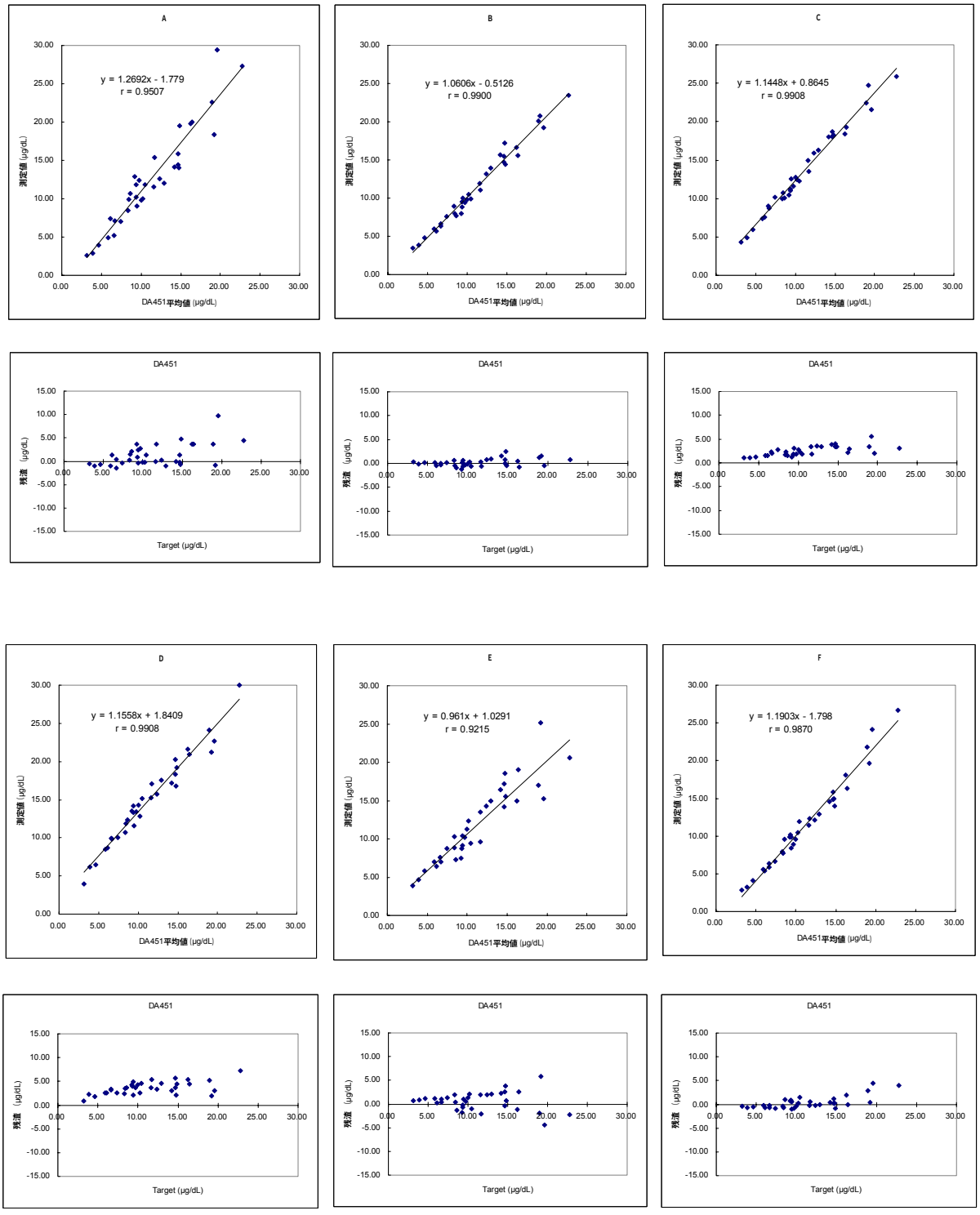


図7) プール血清平均値と各キット測定値相関　SRM921血清ベース校正後

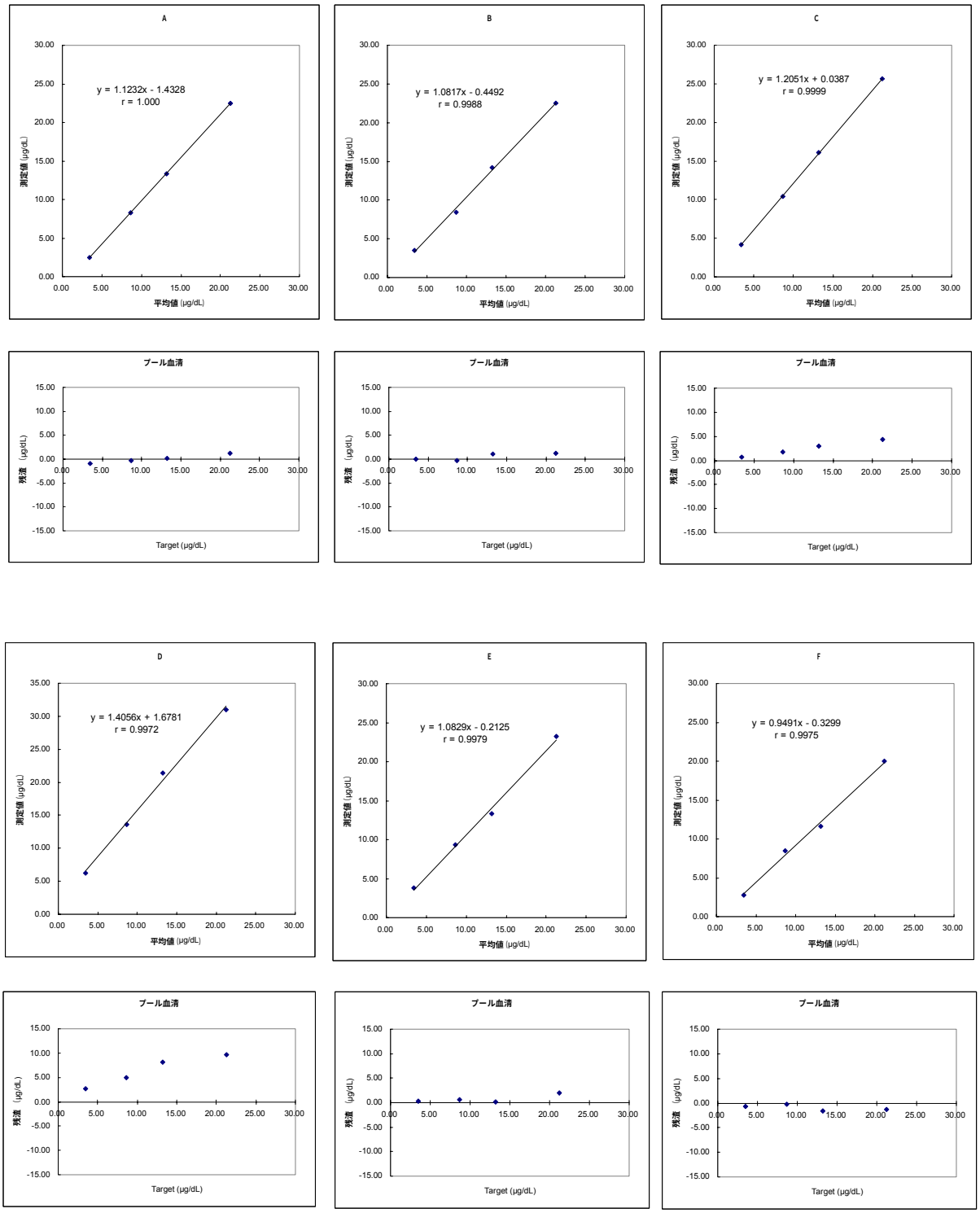


表2) 患者プール血清、パネル血清 SRM921血清ベース 較正後集計

試料名	較正後平均 (μg/dL)	SD	CV (%)
コルチゾール：患者プール血清1	3.83	1.32	34.5
コルチゾール：患者プール血清2	9.75	2.05	21.0
コルチゾール：患者プール血清3	14.98	3.47	23.2
コルチゾール：患者プール血清4	24.13	3.81	15.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-1	13.17	2.77	21.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-2	16.48	2.28	13.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-3	10.48	1.58	15.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-4	6.57	1.32	20.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-5	11.73	2.02	17.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-6	9.62	1.88	19.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-7	18.25	2.32	12.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-8	7.40	1.78	24.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-9	10.37	2.46	23.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-10	10.58	2.24	21.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-11	14.62	2.11	14.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-12	11.25	1.91	17.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-13	18.52	2.10	11.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-14	22.03	4.77	21.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-15	10.98	1.77	16.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-16	9.50	1.63	17.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-17	16.80	2.46	14.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-18	6.87	1.26	18.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-19	7.52	1.45	19.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-20	3.52	0.69	19.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-21	4.28	1.23	28.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-22	8.35	1.53	18.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-23	16.50	1.82	11.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-24	16.00	1.50	9.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-25	13.97	1.60	11.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-26	9.38	1.11	11.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-27	21.63	2.72	12.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-28	13.08	1.74	13.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-29	11.43	1.23	10.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-30	5.17	1.06	20.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-31	25.67	3.25	12.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-32	21.33	2.49	11.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-33	10.58	1.30	12.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-34	16.62	1.78	10.7

図8) IRMM ERM-DA451 パネル全キット平均値と各キット測定値相関 ERMDA192/193校正後

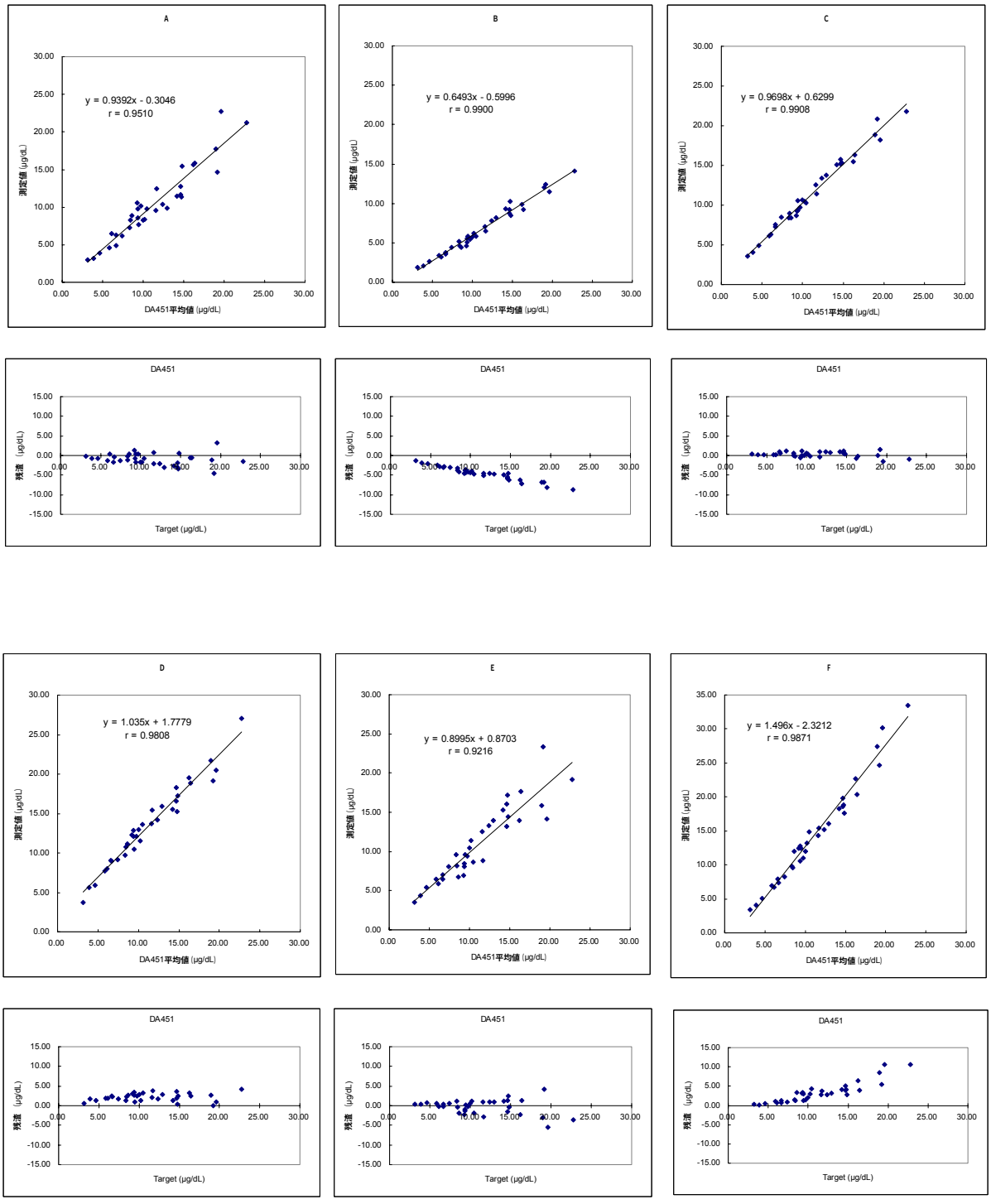


表3) 患者プール血清、パネル血清 ERMDA192/193 校正後集計

試料名	較正後平均 (μg/dL)	SD	CV (%)
コルチゾール：患者プール血清1	3.47	1.60	46.1
コルチゾール：患者プール血清2	8.70	3.33	38.3
コルチゾール：患者プール血清3	13.18	4.74	36.0
コルチゾール：患者プール血清4	21.22	6.63	31.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-1	11.67	4.20	36.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-2	14.65	5.09	34.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-3	9.37	3.34	35.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-4	5.88	2.03	34.5
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-5	10.50	4.09	39.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-6	8.62	3.39	39.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-7	16.20	5.51	34.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-8	6.67	2.55	38.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-9	9.23	3.67	39.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-10	9.34	3.26	34.9
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-11	12.95	4.07	31.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-12	10.01	3.36	33.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-13	16.38	4.94	30.2
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-14	19.54	7.69	39.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-15	9.66	2.93	30.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-16	8.40	2.66	31.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-17	14.76	4.24	28.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-18	6.10	2.04	33.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-19	6.66	2.18	32.7
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-20	3.18	0.82	25.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-21	3.89	1.52	39.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-22	7.42	2.12	28.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-23	14.64	4.34	29.6
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-24	14.18	4.03	28.4
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-25	12.35	3.43	27.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-26	8.31	2.24	27.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-27	19.17	5.38	28.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-28	11.62	3.49	30.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-29	10.20	3.14	30.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-30	4.65	1.43	30.8
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-31	22.81	8.27	36.3
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-32	18.92	6.46	34.1
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-33	9.44	2.93	31.0
コルチゾールパネル血清 IRMM ERM-DA451-34	14.69	3.87	26.3

図9) プール血清平均値と各キット測定値相関
ERMDA192/193校正後

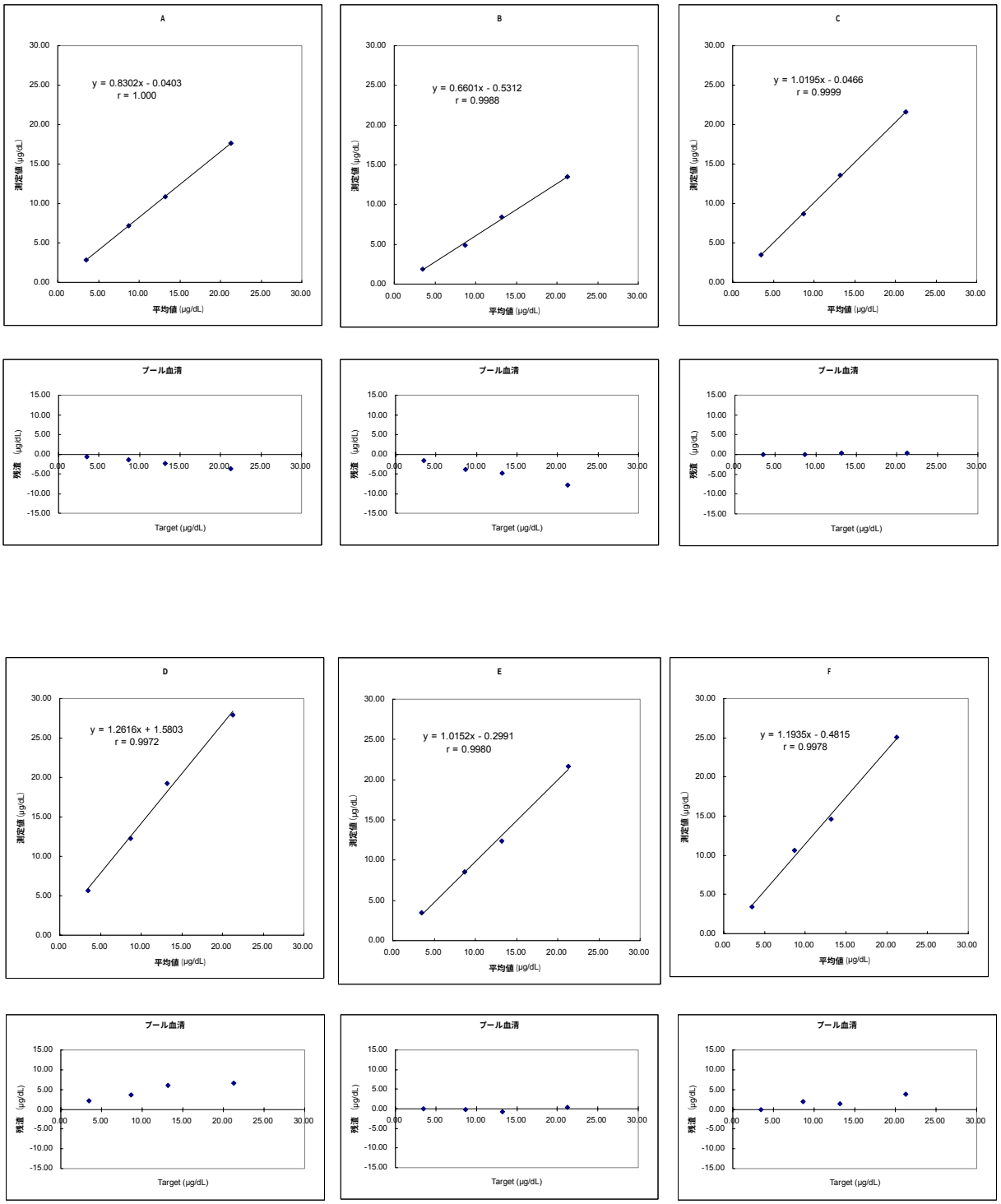
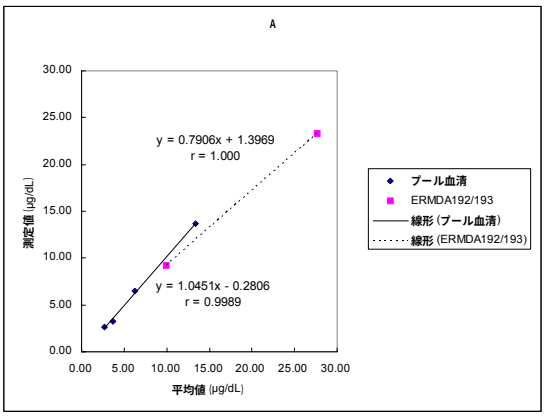
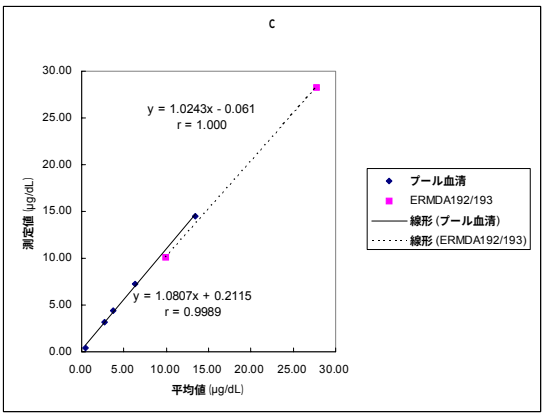
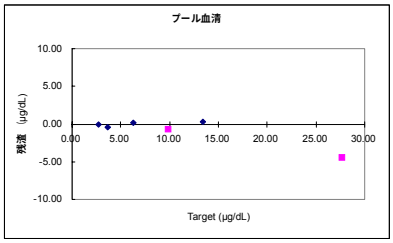
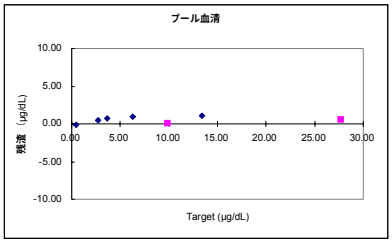


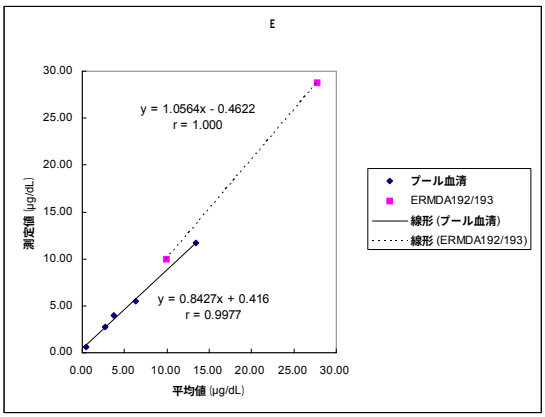
図10) プール血清平均値およびERMDA192/193表示値と各キット測定値相関

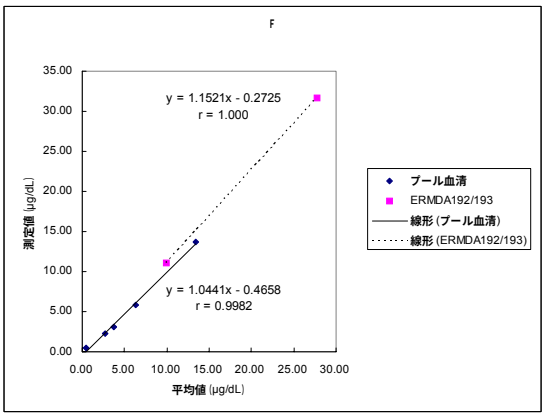


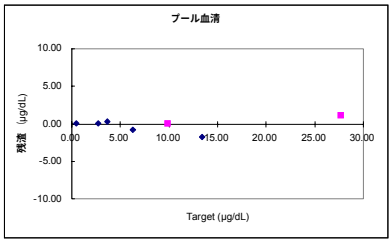












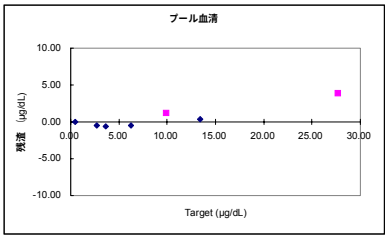
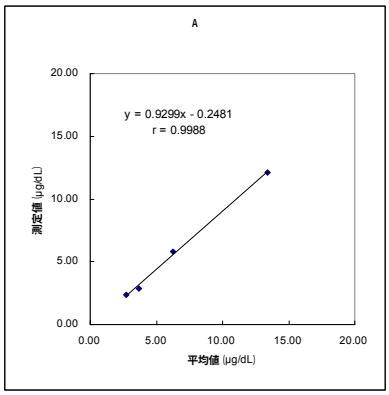
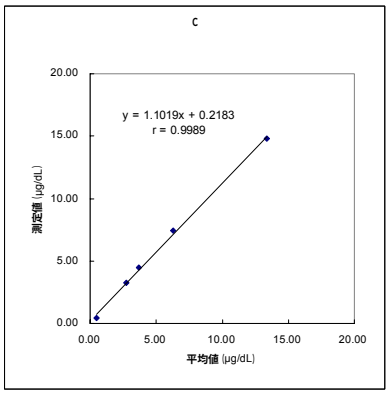
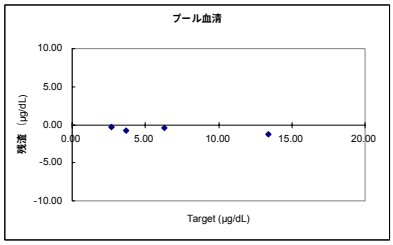
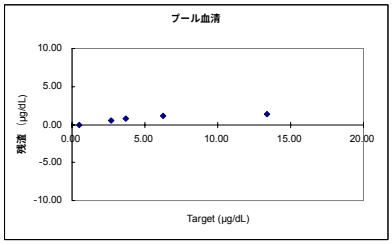


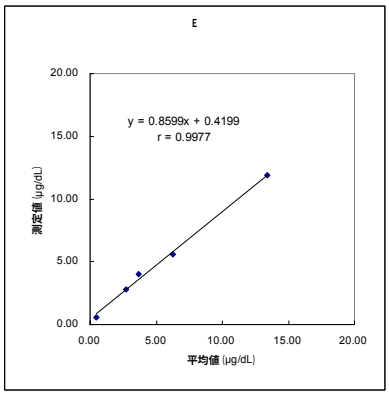
図11) プール血清平均値と各キット測定値相関
ERMDA192/193校正後

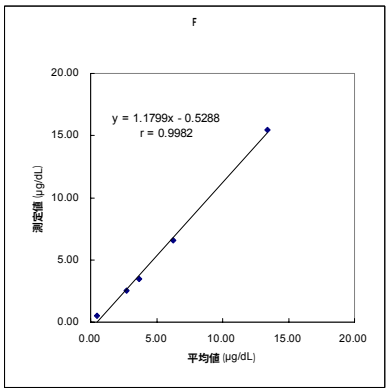


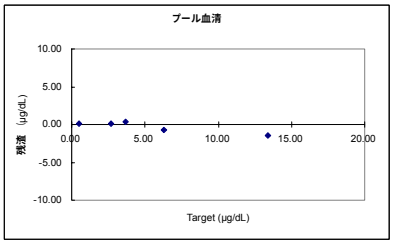












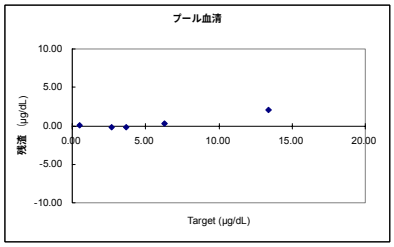


表4) 東ソー株式会社キャリブレータ 測定値一覧

試料名	A	C	E	F	平均	SD	CV (%)
東ソー株式会社製キャリブレータ 1	0.00		0.02	0.07	-	-	-
東ソー株式会社製キャリブレータ 2	0.59	0.61	1.00	0.68	0.72	0.19	26.5
東ソー株式会社製キャリブレータ 3	1.35	2.15	2.76	2.20	2.12	0.58	27.4
東ソー株式会社製キャリブレータ 4	3.53	6.20	8.05	6.90	6.17	1.92	31.1
東ソー株式会社製キャリブレータ 5	13.37	20.54	26.72	23.40	21.01	5.68	27.1
東ソー株式会社製キャリブレータ 6	48.99	65.67	76.28	78.20	67.29	13.38	19.9

(μg/dL)

表5) プール血清測定値一覧

試料名	A	E	C	F	平均	SD	CV (%)
コルチゾール:患者プール血清 1		0.56	0.41	0.46	0.48	ー	ー
コルチゾール:患者プール血清 2	2.67	2.72	3.16	2.26	2.70	0.37	13.6
コルチゾール:患者プール血清 3	3.24	3.97	4.37	3.10	3.67	0.60	16.4
コルチゾール:患者プール血清 4	6.51	5.50	7.26	5.80	6.27	0.79	12.5
コルチゾール:患者プール血清 5	13.64	11.66	14.48	13.70	13.37	1.20	9.0

(μg/dL)

表6) プール血清測定値一覧 ERMDA192/193校正後

試料名	A	C	E	F	平均	SD	CV (%)
コルチゾール:患者プール血清 1		0.47	0.54	0.42	0.48	ー	ー
コルチゾール:患者プール血清 2	2.62	3.64	2.61	2.05	2.73	0.66	24.2
コルチゾール:患者プール血清 3	3.18	5.03	3.81	2.81	3.71	0.97	26.2
コルチゾール:患者プール血清 4	6.40	8.35	5.28	5.27	6.32	1.45	23.0
コルチゾール:患者プール血清 5	13.40	16.66	11.19	12.44	13.42	2.34	17.4

(μg/dL)

２－２－３－１３　　HDL-コレステロール、LDL-コレステロール

要旨

１）血清 HDL-コレステロール（HDL-C）、血清 LDL-コレステロール（LDL-C）の測定について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするため平成 17 年度の検討結果に基づいて HDL-C 及び LDL-C の実試料系標準物質候補品 12 種類（NCCLS(C37-A)に準じて作製した６種類、NIST1951b ２種類、新鮮人プール血清４種類）の効果について共同実験を行い検討した。

２）HDL-C については、11 社 12 種類の試薬を対象に各メーカー指定のキャリブレーター及び実試料系標準物質候補品 12 種類を用い人血清測定値の収束度を観た結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で、以下、各メーカーの指定キャリブレーター、NCCLS(C37-A)に準じて作製した候補品、NIST1951b の順となった。平成 17 年度の検討で良好であった NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についての今回の結果は、候補品の保存安定性または作製時の凍結融解による影響、測定に供した新鮮人血清 10 検体の濃度分布による影響等と推測している。

３）LDL-C については、９社９試薬の試薬を対象に各メーカー指定のキャリブレーター、及び実試料標準物質候補品 12 種類を用い人血清測定値の収束度を観た結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で、以下、各メーカー指定のキャリブレーター、NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品、NIST1951b の順となった。平成 17 年度の検討でロット間差があったものの良好な収束度が得られた NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についての今回の結果は、HDL-C と同様な原因が考えられる。

４）以上の結果から、新鮮人プール血清が実試料標準物質として最も適していることが分かった。また、NCCLS（C37-A）に準じて作製した候補品についても、作製当初は良好な結果が得られたことを考えれば、人プール血清の作製方法、保存方法についての問題点を解決することで、実試料系標準物質候補品の作製が可能となると考える。

５）平成 19 年度は、実試料系標準物質候補品として新鮮人プール血清を用いることとし、その作製方法、保存方法等の課題について取り組み、課題解決のための検討を行なう。また、課題解決後にプロトタイプを作製し、候補品の性状規格、基準測定操作法、値付けの手順、認証値、不確かさ等も含めて実試料系標準物質の作製プロトコルの完成に向けて進めていく。
尚、実試料系標準物質候補品の上位に位置する HDL-C、LDL-C の基準物質（超遠心による分画品）についても、引き続き検討する。

１．目的

本実試料項目群、J1（HDL-コレステロール、LDL-コレステロール）では、血清HDL-コレステロール及びLDL-コレステロールの実試料系標準物質の作製を行い、市販試薬におけるデータの標準化、収束性を可能にすることを目的とする。

２．委員会の構成

本委員会は、実試料系標準物質項目群の柱１ J1・WGで、メンバーの構成を下記に記す。

委員長	櫻林　郁之介（自治医科大学）
委員長代理	濱崎　直孝（長崎国際大学）
アドバイザー	桑　克彦（筑波大学）
	栢森　裕三（九州大学）
	森下　芳孝（三重大学）
委員	山下　章吾（アークレイ（株））
	樋渡　亮二（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティクス（株））
	大和　隆（協和メデックス（株））
	三池　彰（協和メデックス（株））
	岸　　浩司（シスメックス（株））
	芳村　一（（株）シノテスト）
	根占　哲也（（株）セロテック）
	齋藤　和典（第一化学薬品（株））
	斉藤　憲祐（デイドベーリング（株））
	上村　武司（テクノメディカ（株））
	伊藤　康樹（デンカ生研（株））
	松井　寛史（デンカ生研（株））
	武内　剛（（株）ビーエムエル）
	杉原　充（富士フィルム（株））
	横田　敦子（ベックマン・コールター（株））
	吉海　毅（ロシュ・ダイアグノスティックス（株））
	花田　寿郎（和光純薬工業（株））
事務局	藤橋　和夫（日本臨床検査標準協議会）

３．委員会の開催

第５回会合　平成 18 年 4 月 12 日（火）15:00～17:00（日本臨床検査薬協会会議室）
責任者会議　平成 18 年 7 月 5 日（水）15:00～17:00（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合　平成 18 年 7 月 12 日（水）15:00～17:00（日本臨床検査薬協会会議室）
第７回会合　平成 18 年 8 月 4 日（金）16:30～18:30（臨床化学会夏期セミナー会場内）
責任者会議　平成 18 年 9 月 5 日（火）13:00～15:00（日本臨床検査薬協会会議室）
責任者会議　平成 18 年 10 月 12 日（木）13:00～15:00（日本臨床検査薬協会会議室）
第８回会合　平成 18 年 12 月 12 日（火）13:30～15:30（日本臨床検査薬協会会議室）
第９回会合　平成 19 年 2 月 23 日（金）12:30～14:30（日本臨床検査薬協会会議室）

４．標準物質の設定概要

平成 18 年度は、平成 17 年度の検討結果において収束性が観られた NCCLS(C37-A)に準じて作製したプール血清も含めて共同実験により実試料標準物質候補品の選定を行った。

４－１　共同実験の概要

HDL-C、LDL-C を販売している 11 社共同で実試料標準物質候補品の選定を行なった。

・　実試料標準物質候補品としては、NCCLS（C37-A）に準じて作製した 6 種類、新鮮人血清から作製した新鮮人プール血清 4 種類、NIST1951b　2 種類の計 12 種類とした。

・　各メーカーでは上記実試料標準物質候補品の他に、新鮮人血清 10 種類を各メーカー指定の標準測定法で測定した。

・　基準値として、HDL-C は JSLM 測定法（CDH-UV 自動化法）で得られた測定値を、LDL-C は参加 9 試薬での平均値を仮の基準値とした。尚、今回計画していた CDC 基準法による基準値の測定は都合により実施できなかったので、可能であれば後日実施する。

・　性状規格設定のための基礎資料として、全試料の生化学的項目、アポ蛋白の測定及び電気泳動パターンを確認した。

・　解析は、各メーカー指定のキャリブレーター及び実試料標準物質候補品でキャリブレーションした時の新鮮人血清 10 検体の平均値の変動の程度を指標とした。また、HDL-C については、基準値に対する残差も求めた。

・　実施時期は平成 19 年 2 月 14 日から 16 日で行なった。

４－２　共同実験の結果（添付資料１、２参照）

HDL-C での参加メーカー全体（11 社 12 種類の試薬）の新鮮人血清 10 検体の平均値の変動係数（CV）は、各メーカー指定のキャリブレーターの使用で 3.83%、NCCLS(C37-A)に準じて作製した候補品 6 種類で 3.32～5.03%、NIST1951b　2 種類で 5.48～8.83%、新鮮人プール血清 4 種類で 0.89～3.29%となった。これらの結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で実試料標準物質候補品としての収束度の目標もほぼ達成できる成績であった。

また、JSLM 測定法（CDH-UV 自動化法）での測定値を基準値として新鮮人血清 10 検体の相関関係を調べ、その回帰式を用いて実試料標準物質候補品の残差を求めた結果、新鮮人プール血清では全ての試薬でほぼ 5%以内であったが、その他の候補品では大きくはずれる試薬も観られた。

一方、LDL-C も同様に行った結果、参加メーカー全体（9 社 9 試薬）の新鮮人血清 10 検体の平均値の変動係数(CV)は、各メーカー指定のキャリブレーターの使用で 4.38％、NCCLS(C37-A)に準じて作製した候補品 6 種類で 3.32～5.10%、NIST1951b　2 種類で 6.16～8.13%、新鮮人プール血清 4 種類で 0.98～2.16%となった。これらの結果、新鮮人プール血清での収束度が最も良好で実試料標準物質候補品としての収束度の目標もほぼ達成できる成績であった。

今回の検討結果から、実試料標準物質候補品の作製が極めて難しい状況下だが、2008 年度からメタボリックシンドローム健診の検査項目として HDL-コレステロール、LDL-コレステロールが含まれることから、本対応も含めてこれまでに検討した中で可能性のある試料を選択し、その効果を確認することで今後の方針を定めることとした。

４－３　標準化および標準物質の設定経過

４－２の結果を基に討議した結果、HDL-C、LDL-C ともに収束度が良好であった新鮮人プール血清を実試料標準物質候補品とした。しかし、NCCLS（C37-A）に準じて作製した 6 種類の候補品については､本共通実験の前にプレ実験として平成 18 年 9 月に同様な検討を行っている。その時の結果では今回の新鮮人プール血清と同等の収束度が得られていたことから、今回の結果は、本品作製時の凍結融解の回数、保存安定性の影響、または測定に供した新鮮人血清 10 検体の濃度分布が前回と異なっていた等が起因して起こった結果と推測する。
これらの状況も踏まえて、実試料標準物質候補品として新鮮人プール血清としたが、その作製方法、特に保存状態における安定性の確保が必須と考えられる。

４－４　実試料標準物質の設定

今回の検討では、安定性等の課題が残り、標準物質の設定はできなかったが、４－２の結果を踏まえ、HDL-C、LDL-C ともに新鮮人プール血清の保存状態による安定性試験を行い、課題の解決を目指す。

４－５　値付けの測定方法の選択

国際的な観点からも、CDC 基準測定法（HDL-C：UCMH 法または DCM 法、LDL-C：BQ 法）とするが、今回 HDL-C で実施した JSLM（日本臨床検査医学会提唱）法及び LDL-C については LDL-C　RMS 研究会（委員長：櫻林自治医科大学教授）が開発中の測定方法についても、今後さらに検討を重ねた上で選択する。

５．実試料標準物質の作製プロトコル

５－１　トレーサビリティシステム

ＳＩ単位系を最上位に位置づける体系とした。基準分析法は今後選択することとし併記した。（添付資料３）

５－２　血清の性状規格

今後設定する。

５－３　基準測定操作法

上記の候補から選定する。

５－４　値付けの手順

今後設定する。

５－５　認証値と不確かさ

今後設定する。

６．今後の課題

平成 18 年度の研究において、実試料標準物質の候補品を選択し検証試験を行なった結果、HDL-C、LDL-C ともに新鮮人プール血清を候補品とした。しかし、保存安定性の面で大きな課題が残っており、この課題が解決されない限り実試料標準物質の作製は困難である。

平成 19 年度は、これまでの結果を基に HDL-C、LDL-C ともに共通試料とし保存安定性の課題解決に向けての検討を行なう。

７．結び

平成 18 年度の作業において、HDL-C、LDL-C ともに現在販売している測定試薬全てに適用できる実試料標準物質候補品として新鮮人プール血清を選択したが、保存安定性の面で大きな課題を残している。平成 19 年度は残る課題を推し進めるが、現在 HDL-C、LDL-C については、各社が 2 年ごとに CDC の認証試験を受け標準化されているのが現状である。標準物質の作製は安定性、継承性の確認等の作業により長期間の検討が必要である。今後目的を果たすべく作業のスピードアップを図るが、上記認証試験の実績も踏まえて、これまで培ったコンセンサスを無駄にすることなく進めたいと考える。

＜添付資料＞

添付資料１：共同実験結果（HDL-コレステロール）

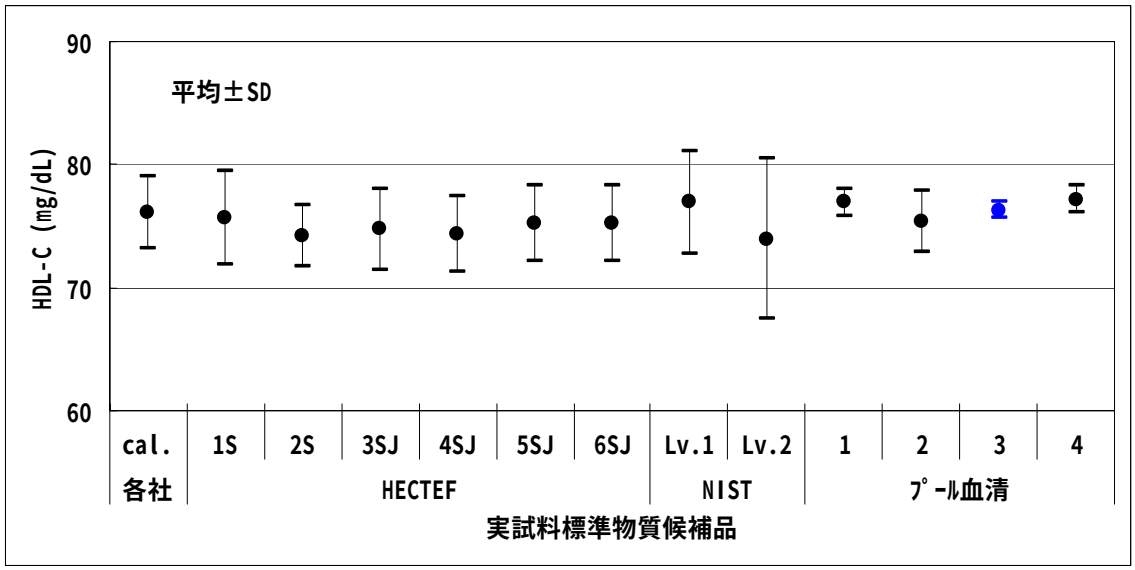
添付資料２：共同実験結果（LDL-コレステロール）

添付資料３：トレーサビリティチェーン

添付資料１：共同実験結果（HDL-コレステロール）

HDL-C

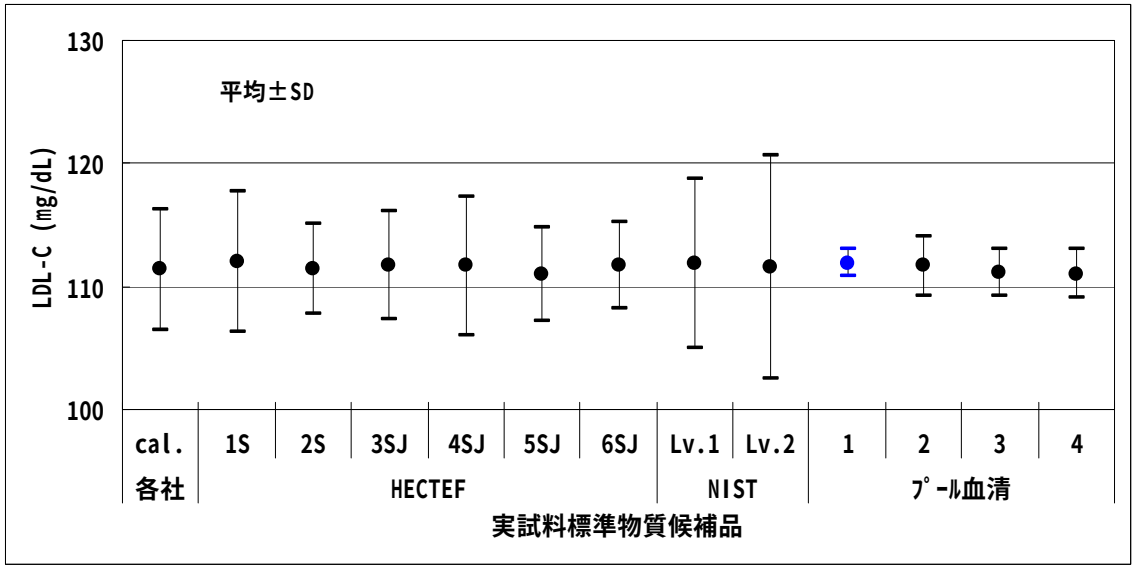
実試料標準物質候補品による血清実測値（n=10）の変動（平均値，SD）



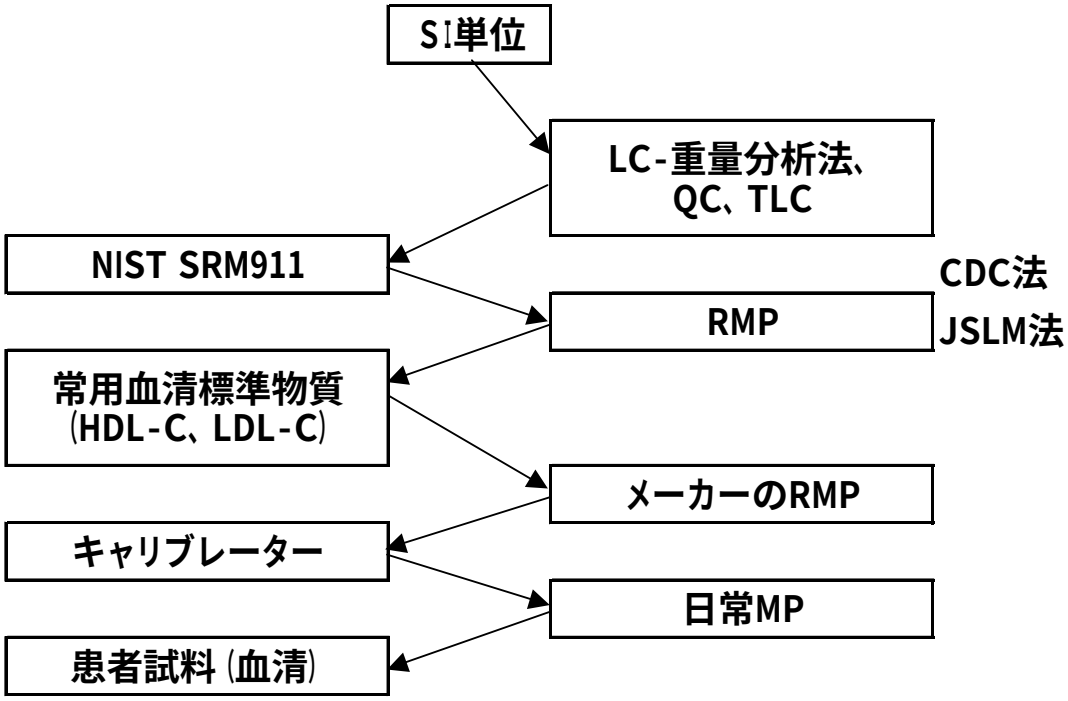
添付資料２：共同実験結果（LDL-コレステロール）

LDL-C

実試料標準物質候補品による血清実測値（n=10）の変動（平均値，SD）



添付資料３：トレーサビリティチェーン



血清HDL-CおよびLDL-C測定のためのトレーサビリティ体系図

２－２－３－１４　　実用および血清アルブミン

要旨

１）ヒト血清アルブミンから高純度に分離精製した単量体アルブミンを原料にして試作された３種類の臨床検査用アルブミン標準物質（実用標準物質、血清用常用標準物質、尿用常用標準物質）を用いて、市販測定キットの測定特性を検討した。

２）実用標準物質については、その下位に位置する血清用常用標準物質および尿用常用標準物質へ、尿用常用標準物質から試薬校正物質（市販キット添付校正物質）への値のトランスファーラビリティを確認することができた。

３）今回作製した実用および血清常用標準物質を用いたトレーサビリティ連鎖が成立しない原因が日常検査法のアルブミン特異性に起因することが確認できた。

４）改良 BCP 法はアルブミン特異性の高く、本法を採用すればトレーサビリティ連鎖確保の可能性が示唆された。

１．はじめに

血清アルブミンは血清総タンパク質の 50～70%を占め、血漿膠質浸透圧の維持、各種物質の運搬に重要な役割を果たしている。臨床的には肝における合成、胃、腸管、腎、肝、網内系などによる異化・漏出、血管内外における分布の異常などの因子によって変動する。一般に総タンパク質とともに、体内タンパク質代謝異常の指標として測定される。また、栄養状態の重要な指標としても測定されている。

一方、尿アルブミン（尿ミクロアルブミン）は糖尿病性腎症など、腎臓の糸球体の疾患指標として重視され、腎透析の判断指標としても重要である。

２．目的

アルブミンの測定はアルブミンと色素との結合による色調の変化を利用してアルブミン濃度を測定する色素法や抗原抗体反応を利用した免疫法がある。色素としては HABCA, BCG, BCP などが用いられるが、HABCA はビリルビンや薬剤の影響を受け、BCG 法はグロブリンと反応するため、グロブリンの濃度の影響を受ける。

一方、BCP 法はグロブリンの影響は受けないが、酸化型および還元型アルブミンとは色調に差がある。そのため、各種測定法間の互換性を確保するためには、それぞれの測定値を補正するための標準物質が必須である。その標準物質を確定し、測定値のトレーサビリティを確保するための測定体系を確立することを目的とする。

３．委員会の構成

氏　　名	所　　属
委員長　大澤　進	九州大学医学部保健学科
委　員　村本良三	心臓血管研究所附属病院検査部
大竹和子	慶応義塾大学医学部附属病院検査部
渡津吉史	ダイアシス（株）
岸　浩司	シスメックス（株）
山本茂一	（株）カイノス
花田寿郎	和光純薬工業（株）
斉藤憲祐	デイドベーリング（株）
高笠信之	関東化学（株）
田中龍彦	（株）シノテスト
桑原正英	第一化学薬品（株）

1）委員会の開催

穂津用に応じて e-mail による協議を行った。

2）標準物質の設定概要

図３に示すようにアルブミンの標準物質は「高純度標準物質」「実用標準物質」「常用標準物質」を設定することにしている。そして、それぞれの概要は下記の通りである。

なお、これら標準品の品質規格は平成１７年度報告書に記載した。

・高純度標準物質：ヒト血清アルブミン（リコンビナントヒト血清アルブミンも対象とする）よりほぼ純品に精製したもので、ＳＩ単位に繋げるための標準品（一次標準物質)。本品の作製には困難を伴うので今後の課題とする。

・実用標準物質：ヒト血清アルブミンより単量体アルブミンのみを 98%以上に精製したもので、糖などの安定化剤を添加し、凍結乾燥した標準品（二次標準物質)。

・常用標準物質：本クラスの標準物質は次の２種類を作製する。

１）尿アルブミン常用標準物質：尿中アルブミン測定のための常用標準物質で、単量体ヒトアルブミン純度 95%以上で糖などの安定化剤を含有する凍結乾燥品。使用時に 1.0ml の純水を添加､溶解して使用する｡尿アルブミン免疫測定法に適用する。 アルブミン濃度は 300±50mg/dl とする。

２）血清アルブミン常用標準物質：血清中のアルブミン測定のための標準物質。当初ヒト血清を含まない凍結乾燥標品を想定していたが、昨年の研究結果より、市販の測定試薬がアルブミン以外の蛋白質を測定しており、常用標準物質が純品のアルブミン以外を含まないとトレーサビリティ連鎖が設定出来ない。そのため、ヒト血清をマトリックスとした標品に変更する必要が示唆された。そのために、適切な標準物質開発の検討をする。

４－１．実験計画書

４－１－１．トレーサビリティ不成立の原因究明。

１）各種色素法とアルブミン特異性の高い免疫法（ネフェロメトリー）を用いてそれぞれの測定法のアルブミン特異性を確認する。

４－１－２．市販アルブミン標品の日常検査法による反応性と互換性の確認。

各色素法が単量体アルブミンと血清中アルブミン（単量体のみでなく、２量体などを含む）が各種色素に対して同等の反応性（発色反応）を示すかどうかの確認をする。

１）測定方法

①改良 BCP 法

②BCP 法

③BCG 法

④免役比濁法

２）評価のためのアルブミン標品

①ヒトアルブミン凍結乾燥品（純度 97ー99%）3 種類

②ヒトアルブミン 30%アルブミン水溶液 1 種類

③ヒトアルブミン分画 V　2 種類

④高純度ヒトアルブミン 2 種類

⑤CRM470

⑥実用標準物質

３）測定機器

市販生化学自動分析装置

４）評価法

①実用標準物質と他の標品の色素法での反応互換性確認

②実用標準物質と他の標品の免役比濁法での反応性

③その他

４－１－３．常用基準測定法の開発

実用標準物質の値を常用標準物質あるいは血清検体のアルブミンに伝達する測定法、すなわち、アルブミン以外の血清蛋白質が存在する検体中のアルブミンのみを正確に測定する方法の開発。

１）検討方法

① HPLC-UV　法

② HPLC-色素法

③ 免疫法

④ 改良 GPC 法

４－２．共同実験

１）結果

昨年度、今回開発した実用標準物質の補正効果を患者プール血清 3 種類を用いて 17 種類の日常検査試薬（BCP 法 5 種、BCG 法 9 種類、ドライケミストリー；BCG 法 2 種類、ラテックス免疫比濁法１種類）について実施した（表１）。その結果、補正前および CRM470 による補正とはよく一致し、変動係数 CV 値がそれぞれ 2.2～6.5%、2.1－6.7%であるのに対して実用標準物質による補正は CV 値 9.2～12.9%となり方法間の測定値ばらつきが拡大した。　ドライケミストリーは試料の組成（マトリックス）により影響が指摘されており、これを除外して補正効果を見ると、CV 7.1～11.7%と改善がみられるが、補正前よりは方法間のばらつきが大きい結果で、ばらつきの原因がマトリックスの問題のみでないことが確認できた。

また、図１には CRM470 補正値と実用標準物質補正値の相関を示したが、市販の測定試薬を用いた場合、実用標準物質補正値の方が低値を示し、両者の間にはＹ切片があり、両方間にはコミュータービリティが取れないことが判明した。

この原因を検証するために、アルブミンに対して特異性の高い免疫測定法（ネフェロメトリー法）とBCG法、BCP法およびBCP改良法との相関を調べた（図２）。その結果、BCG法は免疫測定法に対してＹ切片を有し、高値示し、明らかにアルブミン以外の物質を計り込んでいることが確認された。現在、世界的に蛋白質の標準物質として多用されているCRM470はヒト血清をマトリックスとしており、アルブミン以外にも多くの血清蛋白を含有しているので、免疫法以外の方法で測定する場合のアルブミンの実用標準物質にはなり得ないことが示唆された。

表１．実用標準物質および CRM470（国際蛋白標準物質）による補正効果

	補正前		実用標準物質補正				CRM470 補正	
測定試料名	全体	ドライ除外	全体	ドライ除外	BCP 法	BCG 法	全体	ドライ除外
実用標準物質	10.8	6.1	0.1	0.1	0.0	0.0	10.8	6.4
常用標準物質	10.6	6.1	1.4	2.6	1.8	3.1	10.5	6.4
CRM 470	1.8	1.8	8.4	6.6	6.8	5.5	0.4	0.2
患者血清-低濃度	6.5	6.8	12.9	11.7	3.9	7.5	6.7	7.0
患者血清-中濃度	3.2	3.3	10.4	8.7	5.3	6.1	3.3	3.5
患者血清-高濃度	2.2	2.2	9.2	7.1	5.9	6.2	2.1	1.8

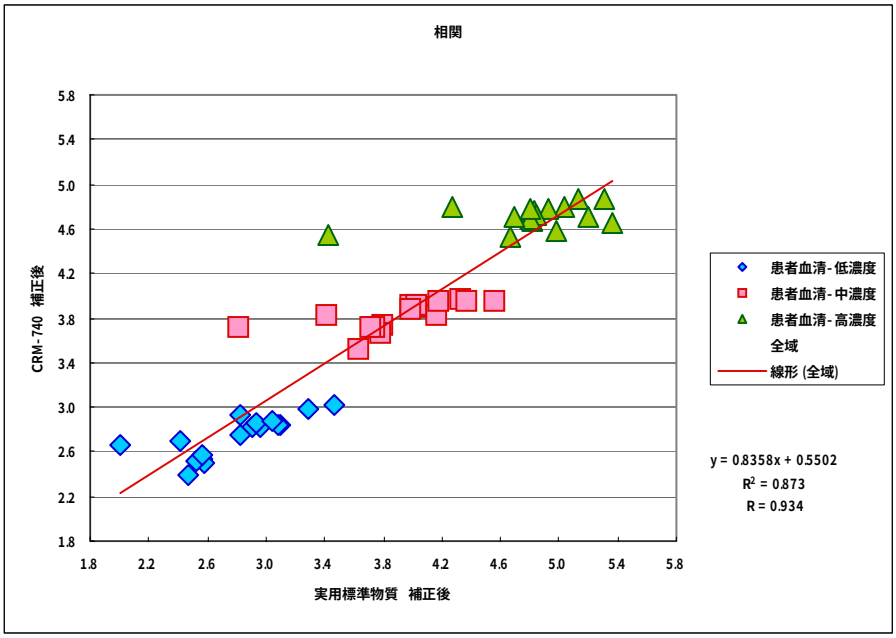


図１．CRM470および実用標準物質による補正後の測定値の相関

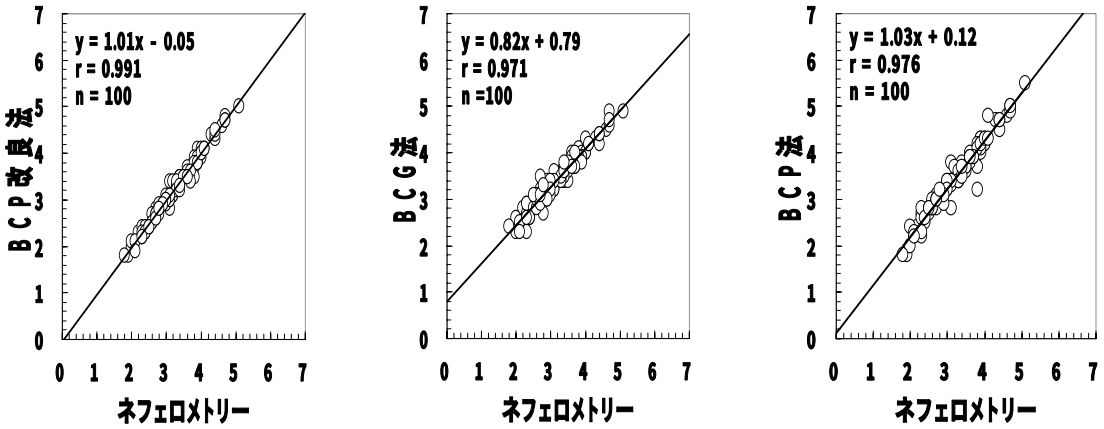


図２．免疫測定法と各種測定法との相関

日常検査法で利用されている色素法では、利用する色素により血清蛋白に対する反応性が異なることが知られており、どの方法にも正確さを伝達させ、かつ反応互換性を持たせることは難しい。とくに日常的に使用されている血清アルブミン測定試薬はアルブミンに対する反応特異性は完璧ではなく、便宜上、見かけ上の値を求めているにすぎないため、校正用標準物質は各社で異なり、共用出来ないのが現状である。

また、BCG法とBCP法とではコミュータビリティが取れていない。結果的に、今回設定した実用標準物質日常法に使用出来る可能性があるのは新BCP法のみであった。その結果、現在多用されている市販試薬を用いる限り、標準物質の開発のみではトレーサビリティ連鎖の確立は非常に困難である。

５－１．トレーサビリティ連鎖

アルミンの測定体系を図１に示した。18 年度の研究の結果、市販の血清アルブミン測定試薬は血清中のアルブミン以外にグロブリンなどの蛋白質を測り込み、アルブミンに対する特異性に問題があった。そのために血清のようなアルブミン以外の蛋白質を含有する検体においてアルブミンのみを測定し、上位の標準物質にトレーサビリティある特異性の高い測定法の開発が重要になった。そのため、液体クロマトグラフィーでアルブミンのみを分離し、測定する常用基準測定法を開発中である。また、血清アルブミン常用標準物質はヒト血清をベースとしたものにする必要がある。

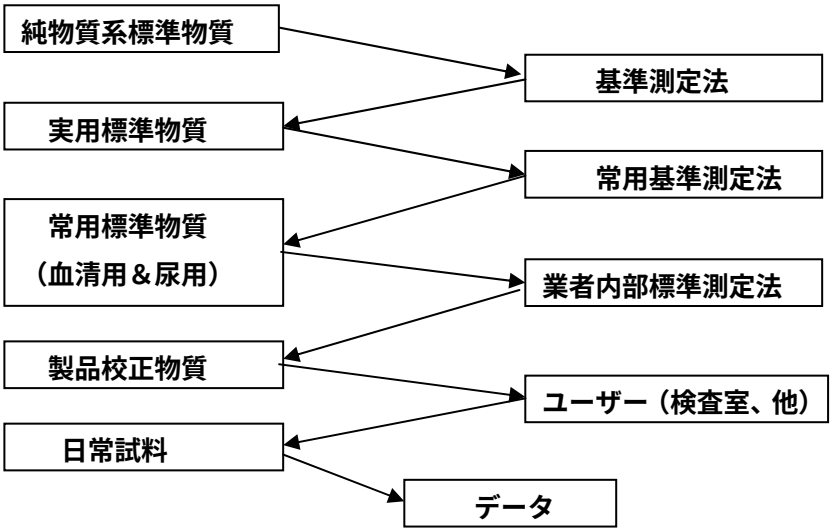


図３．アルブミンの測定体系

５－２．試料の性状規格

常用基準物質および血清アルブミン常用標準物質の性状規格を表２に示した。

５－３．値付け方法

１）基準測定法：実用標準物質に値付けするための方法。アミノ酸分析法による値付けを基本とし、その妥当性を検討中。精確性が確認できた時点で試作した実用アルブミン常用標準物質に値付けを実施する。

２）常用基準測定法：実用標準物質の値を常用標準物質および日常検体（患者血清）に伝達するための測定法。血清アルブミンの場合は検体がヒト血清であるため、多くの蛋白質を含んでおり、現在日常的に使用されているＢＣＧ法はアルブミン以外の蛋白をも計り込み、特異性に問題がある。そのため、実用標準物質から血清アルブミン常用標準物質、製造者内部標準物質および日常検体への値のトランスファビリテイーを確保するために、ＨＰＬＣを用いた常用基準測定法の開発を実施している。

４－１－３に記載した HPLC-UV 法、HPLC-色素法、免疫法および改良 GPC 法について検討を実施しているが、HPLC-UV 法は他の低分子物質の影響を受けるため、候補から除外した。他

の３法については検討中である。

表２．ヒトアルブミン標準物質の規格

項　　目	実用標準物質	血清常用標準物質
1　適用範囲	本品はﾋﾄの尿中および血清中アルブミンを測定する場合の実用標準物質として使用することを目的とする。	本品はヒト血清中アルブミンを測定する場合の常用標準物質として使用することを目的とする。
2　原料		
2-1 起源	ヒト血清を起源とする。	ヒト血清を起源とする。
2-2 基材	ヒト血清アルブミン	ヒト血清アルブミン
2-3 添加剤	緩衝材および安定化剤を添加する。	緩衝材および安定化剤を添加する。
2-4 感染物質	本品は、原料であるヒト血液の HBs 抗原、HCV 抗体、HIV-1 抗体および 2 抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていること。 注意)感染性物質の検査で陰性の結果を得ていても、感染の可能性を完全に否定できるものではない。また、それ以外の感染性物質の検査は実施していないので、感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分に注意して取り扱う。	本品は、原料であるヒト血液の HBs 抗原、HCV 抗体、HIV-1 抗体および 2 抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていること。 注意)感染性物質の検査で陰性の結果を得ていても、感染の可能性を完全に否定できるものではありません。また、それ以外の感染性物質の検査は実施していませんので、感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分に注意して取り扱う。
3　特性		
3-1 形状	凍結乾燥品	凍結乾燥品
3-2 包装	ガラスバイアル、1ml(使用時)の単品	ガラスバイアル、1ml(使用時)の単品
3-3 反応性	ヒト血清と同様な挙動を示す。	ヒト血清と同様な挙動を示す。
3-4 物理学的性質		
3-4-1 分子量	SDS-PAGE で 67kDa である。	SDS-PAGE で 67kDa である。
3-4-2 純度	HPLC 分析で 98%以上。	HPLC 分析で 95%以上。
3-5 安定性		
3-5-1 開封前の安定性	1) 有効期間:5 年(10℃以下冷蔵)を目標とするが、最終的には安定性試験終了後に決定する。 2) 有効期間内でのモノマーアルブミン残存量は 98%以上である。	3) 有効期間:5 年(10℃以下冷蔵)を目標とするが、最終的には安定性試験終了後に決定する。 有効期間内でのモノマーアルブミン残存量は 95%以上である。
3-5-2 開封後の安定性	10℃以下の保管で 8 時間使用できる	10℃以下の保管で 8 時間使用できる
3-6 均一性	1) 10 バイアルの 3 回反復測定を行いバイアル間差は±3%以内とする。 2) 不確かさを表記する	1) 10 バイアルの 3 回反復測定を行いバイアル間差は±3%以内とする。 2) 不確かさを表記する
４アルブミン濃度	使用時に 3.0±0.5g/dl とする。	使用時に 3.5±0.5g /dl とする

６．今後の課題

１）実用標準物質への値付けを行う。

２）常用基準測定法の開発をするとともに、常用標準物質の値付けを行う。

３）実用標準物質　→　常用標準物質（尿用、血清用）　→　実検体（患者血清）のトレーサビリティの確認を実施する。

４）開発した標準物質を国際機関（JCTLM など）にノミネートする。

２－２－３－１５　尿アルブミン

要旨

１）ヒト血清アルブミンを高度に精製して純度 95%以上の単量体ヒトアルブミンを得た。

２）尿アルブミン常用標準物質の品質規格を策定した。

３）高純度の単量体ヒトアルブミンを用いて尿アルブミン常用標準物質プロトタイプⅡを作製した。このものは策定した品質規格に適合した。

４）本標準物質の値付けは国際的常用標準物質である CRM470 を上位物質として暫定的に実施した。将来的には現在開発中のヒトアルブミン実用標準物質を上位標準物質として値付けする。

５）本常用標準物質の評価を実施し、尿中アルブミンおよび尿総たんぱく質測定のための標準物質として適していることを確認した。

１．目的

尿中微量アルブミン測定は、糖尿病早期腎症の診断基準（30-300 mg/day, 30-300 mg/g Cr)、治療、経過観察、予後の推定に不可欠な検査である[1)]。近年、脳血管、循環器障害のリスクファクターとしても、大きな関心が寄せられている。精密測定は抗原抗体反応の原理に基づく免疫学的測定法による。日常検査の試験紙検査蛋白定性検査では色素法（ブロムフェノールブルー法）により尿中アルブミンを検出する。最近、同一原理で微量アルブミンを高感度に検出する試験紙検査法も導入され、厚生労働省の診断基準にも組みいれられている[1)]。さらに尿中総蛋白量定量法においても、主にヒト血清アルブミン（Human serum albumin; HSA）が検量物質として用いられ、腎疾患の確認診断、フォローの指標として、尿中測定の意義はきわめて高い。

しかしながら、腎臓病学会・糖尿病学会の合同委員会調査報告に見られるように、尿中微量アルブミン値は測定システム間に乖離が見られ、検査結果の互換性が低い現状にある。尿総蛋白定量、試験紙検査においても同様で、この解決に日本臨床検査標準協議会（JCCLS）では、尿試験紙検査の標準化を推進し、尿蛋白検査の定性判定基準として、30 mg/dl（300 mg/l)を（＋）と定めている。問題は、基準となる物性の明らかな標準物質が存在せず、また値付け方法も標準化されていないため各社が独自に用意した検量物質により定められており、互換性は保障されるものでない[2)]。このように尿蛋白検査には全ての項目に渡り標準化が必要とされ、検査精度保証システムの枠組みの中で、研究を重ねてきた。

この問題の網羅的解決を目的に、本委員会では尿アルブミン測定標準物質 prototype Ⅰを試作し、これを踏まえて本年度は prototype Ⅱを作製し、IFCC が作製した血清蛋白国際標準品 CRM470 から値付けトライアルを実施し、広く本標準物質の利用性を探索し、最終ロット作成に向けての準備、検討を行った。

２．委員会の構成

氏　　名	所　　属
委員長　伊藤喜久	旭川医科大学臨床検査医学講座
委　員　市原清志	山口大学医学部保健衛生学科
青木芳和	神奈川県予防医学協会
細萱茂美	山梨大学医学部付属病院検査部
原　文子	群馬大学医学部保健学科基礎検査
芝紀代子	文京学院大学保健医療技術学部臨床検査学科
上村八尋	国際試薬（株）
吉海　毅	ロッシュダイアグノスチック（株）
新井次郎	（株）医学生物学研究所
池田　貢	栄研化学（株）
渡津吉史	国際試薬（株）
岸　浩司	国際試薬（株）
的場功始	国際試薬（株）
斉藤憲祐	デイドベーリング（株）
竹内邦夫	デンカ生研（株）
三平房夫	三菱ヤトロン（株）
小宮山妃嗣吏	和光純薬工業（株）
佐伯ひろみ	ベックマン・コールター（株）
鈴木紘子	（株）アークレイ
山口哲史	（株）アークレイ

３．委員会の開催

委員会の開催は以下のとおりであるが、その他の連絡は電子メールで行った。

４月　伊藤先生と打ち合わせ

５月　伊藤先生、細萱先生と打ち合わせ

８月　伊藤先生と打ち合わせ

９月　共同実験の報告会を実施（伊藤先生、細萱先生、協力企業、その他企業）

１０月　伊藤先生と打ち合わせ

１月　細萱先生と打ち合わせ（予定）

４．標準物質の設定概要

４－１．トレーサビリティ連鎖

アルブミン測定のトレーサビリティ連鎖を図１に示した。アルブミンの測定において最上位の高純度標準物質はSI単位に繋げられるような物質に設定し、その値を標準測定法を用い、実用標準物質とする。さらに、この値を常用標準物質に伝達し、以下、日常検査に繋げるものであるが、

アルブミンは生体高分子であり、脂質や多くの化学物質を結合している可能性があり、最上位の高純度標準物質の作製の目途が付いている訳ではないので、暫定的に実用標準物質を上位の標準物質としてアルブミン測定のトレーサビリティ連鎖を構築することにした。現在、実用標準物質、その下位の常用標準物質として、血清および尿アルブミン常用標準物質を設定し、それぞれ、Prototype を作製し、一連の評価試験は終了した。このうち、実用および血清常用標準物質については値付け方法（測定法）の検討に着手しており、19 年度中に終了の予定である。

一方、尿アルブミン常用標準物質の値付けについては実用標準物質の設定が完了していないので既存の方法を用い、上位標準物質として CRM470 を暫定的に用いることによりトレーサビリティ連鎖を完成した。

４－２．標準物質の設定概要

標準品作製に当たっては、基準となる物質の構造、物性の定義化、各測定システム間、システム内における一次標準品からサンプル中の対応物質までの comparability, traceability の確保、上記に示された仕上げ内容の基本性能などが少なくとも満たされ、長期間安定供給の下で、継続利用が望まれる。

本標準品においては、微量アルブミン尿診断基準上限値の 300ｍｇ／ｌに近似させ濃度設定することにした。この作製過程で、日本臨床検査標準協議会（JCCLS）から、尿試験紙検査蛋白の判定基準 1＋を 30 mg/dl（300 mg/ｌ）と定める基準の公表がなされ、設定値の利用性が拡大した[2)]。全ての測定システムにこの設定値が適合できるか、CRM470 の CRP での苦い経験から、溶解時における純水添加液量に一定の幅を持たせて、最終調整濃度を 100mg/ｌ -1200 mg/ｌ（10 mg/dl-120 mg/dl）の範囲で設定して対応し、さらに尿以外の体液測定もカバーできるよう多目的安定利用の拡大にも努めた。

上記の日本腎臓病学会の腎機能、尿蛋白委員会での調査結果からも、尿総蛋白測定法においても大きなばらつきがあることが示されている（５）。これも標準物資が定められておらず、検量物質の組成、値付け方法が各社に委ねられていることなどによる。さらに、測定原理はピロガロールレッド法、クマッシイ法、スルフォサリチル酸法と個別成分に対する反応性が異なるため測定値は大きく乖離することになる。ネフローゼ症候群の診断基準は尿中蛋白量が 3.5 ｇ以上と定義されている。ところが、なにを基準にどのような方法で定めたか、全く公式の報告記録がない。未だに正確な測定に基づく臨床診断、治療がなされていないゆゆしき状況に変わりない。

このような背景も踏まえて本標準品を、尿を始めとして種々の体液のアルブミン、総蛋白測定（定性、定量）の共通標準品としての利用をデザインした（図２）。CRM470 を仲立ちとして、血清も含む全ての体液の総蛋白、アルブミン定性、定量検査が原理の違いを超え、共通判断基準の下で臨床利用が行われ、より体液相互間における正確把握が期待される。

５．尿アルブミン常用標準物質 Prototype Ⅱの作製

５－１．単量体ヒト血清アルブミン（HAS）の精製

Prototype Ⅰの作製は、材料として HSA fraction Ⅴを原材料として用いており、混在する成分も多いことから、陰イオンカラム、陽イオンカラムクロマトグラフィー、ゲル濾過法の３ステッ

プで精製した。Prototype Ⅱは市販の HSA の高純度のものを購入して starting material (Sigma, USA、純度 98%）として、ゲル濾過法の１ステップのみとして、回収効率を 32%から 55%に高めた。すなわち 10%HSA 溶液を純水に 10℃で 16 時間透析後、Sephacryl S200 (GE ヘルスケア バイオサイエンス、東京）で HPLC により単量体を分離精製した。これを 20 mM PBS (pH 7.2)に添加し、凍結乾燥処理し、窒素ガスで置換、保存した。濃度は純水を２ｍｌ添加して約 300 mg/L になるよう調整した（図３）。

精製度は HPLC ゲルろ過法（図４）、SDS-PAGE、Native PAGE（図５）、Western blots により確認し、単一ピーク、バンドを示した。いずれも 95%以上の純度であった。シナピン酸をマトリックスとする MALDI-TOF MASS (Bruker 社, Germany）分析では、単一ピークとして、他の夾雑物質の混在もほとんど認めらなかった（図６）。

尿中にはアルブミンと分子量、物性が近似した成分が混在する。比較的量的に多く分子サイズが近似した成分に対する抗体活性を有する抗尿蛋白抗体 (DAKO, Denmark）による Western blots を行い、純度を検討した。この結果、α1－アンチトリプシン、オロソムコイド、トランスフェリン、α1－ミクログロブリンとは反応せず、67,000 の単量体アルブミンのみと陽性反応を示した（図７）。

以上の結果からも明らかなように、９５%以上の純度の単量体アルブミン (monomeric albumin; mALb ）を得た。

図1 アルブミン測定のトレーサビリティ連鎖

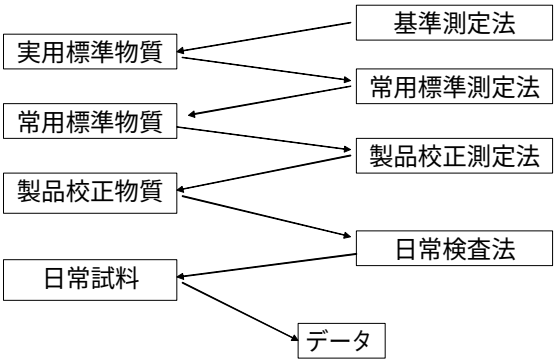


図2　CRM470を中心とするアルブミン、総蛋白測定標準化体系の確立

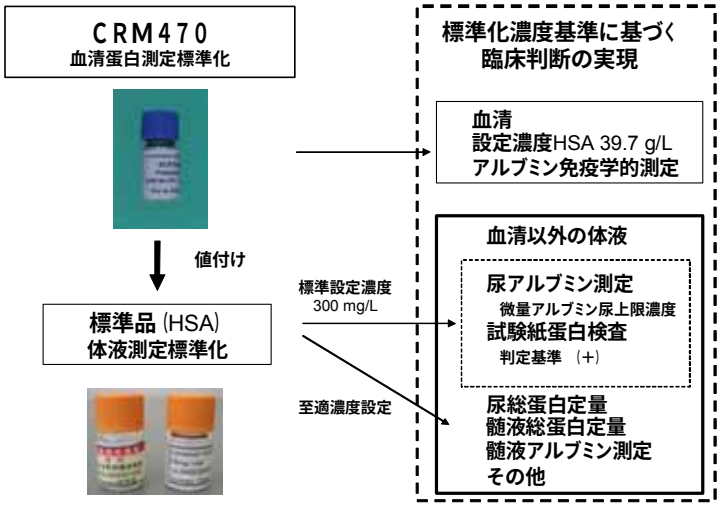


図3　単量体アルブミン精製法

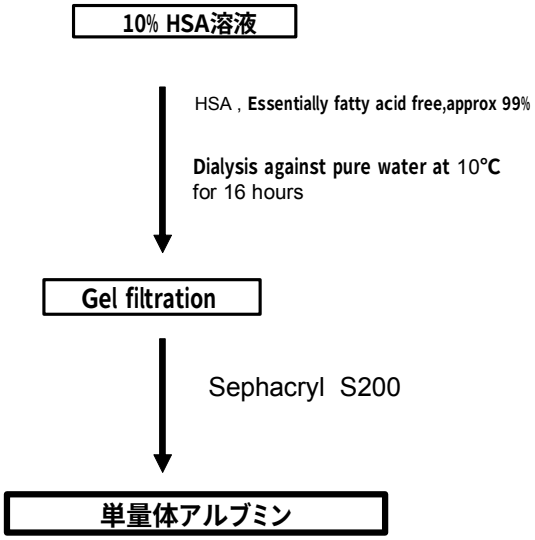
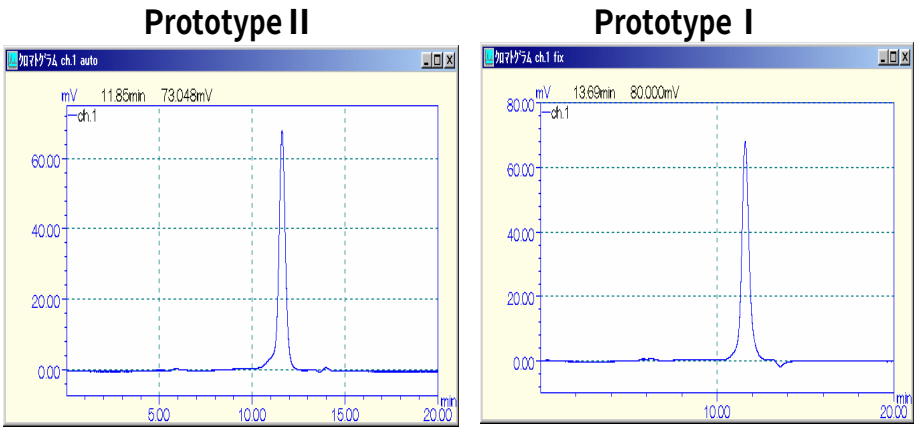


図4　HPLCによる精製度、分子サイズ検討



HPLC analysis condition was as follows:

○system; TOSOH 8020,

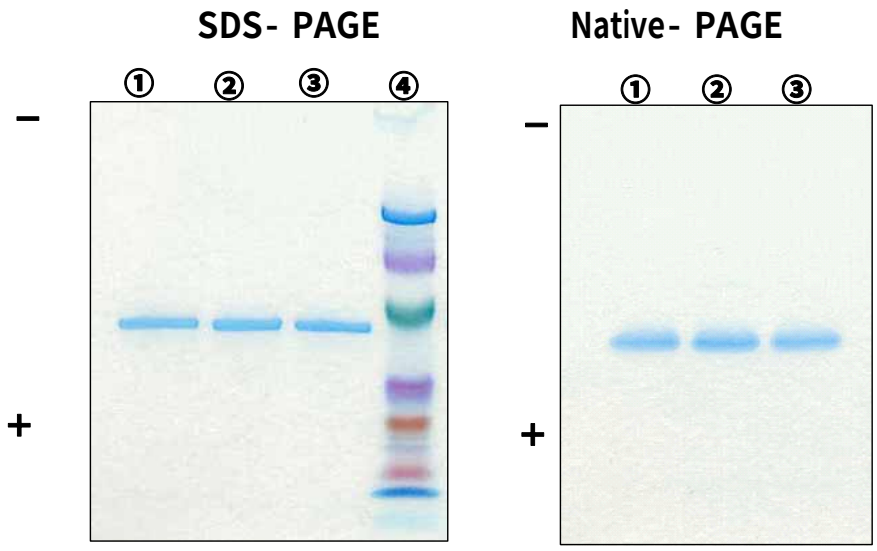
○column; TSK gel G4000SWXL (Φ7.8mm × 30cm),

○flow rate; 1.0ml/min,　○temperature; 30°C,

○mobile phase; 100 mM Pi buffer (pH6.8) contain 150 mM NaCl,

○injection volume of sample; 20 μL.

図5　SDS-PAGE, Native PAGEによる精製度、
分子サイズ検討



①; 凍結乾燥前のPrototype II ,　②; Prototype I

③;凍結乾燥後 (完成品) Prototype II , ④; 分子量マーカー

図6　TOF MASSによる精製度、分子サイズ検討

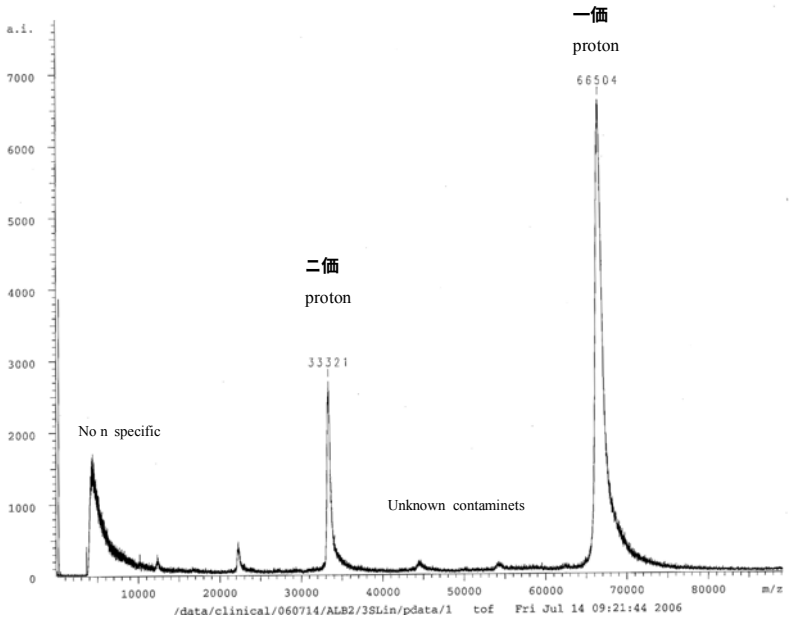
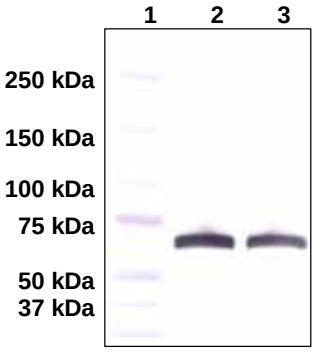


図7　抗尿蛋白抗体との反応性

Western blots**分析**



- Lane 1 : **マーカー**
  37, 50, 75, 100, 150 and 250 kDa.
- Lane 2 : Prototype I
- Lane 3 : Prototype II
- Gel **濃度** : Polyacrylamide Gel 5-10%

５－２．尿アルブミン常用標準物質（プロトタイプⅡ）の作製

患者尿は、病態背景、採取保存条件などにより変性、重合も見られるなど構造の不均一性が多かれ少なかれ存在し、測定値のばらつきは不可避となる[3)]。しかし、その最大原因は、基準となる標準物質が存在しないことにで、これまでの予備研究から、CRM470 を共通の検量物質として用いた場合には、縮小改善が得られることが示されていることから、物性を定め適切に値付けされた標準品の作製によりこの問題の解決が期待される。すなわち。血清由来の単量体精製 HSA から構成される Prototype Ⅰ を作製し[4)]、この成果も踏まえて、今回は大量に長期間に渡り安定供給を可能にする目的で、物性、純度、安全性を維持しながら回収効率を高め、Prototype Ⅰ にほぼ準じて凍結乾燥型の Prototype Ⅱ 標準品を作製した（図８）。作製はシスメックス社（神戸）による。

図8 標準品外観

５－３．プロトタイプⅡの性状

１）病原微生物検査

原材料の安全性は購入時点で保証されている。本標準品については、塩野義ラボラートリー（大阪）で、HB s 抗原,HIV-I 抗体, HCV 抗体検査を行い、いずれも陰性であることを確認した。なお最終ロットでは CRM470 で実施されている Anti-HBc 抗体、HTLV Ⅱ 抗体、*Toreponema pallidum* 抗体についても検査を実施し、必要に応じて PCR 法により、より感度での高い安全性の保証する予定である。

２）凍結乾燥後の安定性

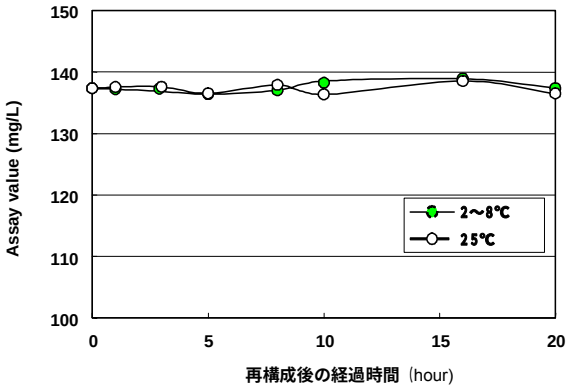
日立自動分析装置（日立 7170)、シスメックス社の試薬で BCR レポートに従い測定した[5)]。アルブミン、総蛋白濃度（TP）を１０回連続で測定し、CV はそれぞれ１．35%、0.87%と良好な結果を得た。またバイアル間差も有意な差異は認められず、均一性が示された（データ提示せず)。純水で溶解後、冷蔵保存、室温保存で継時的に 20 時間フォローしたが、いずれも濃度変化はなく

高い安定性を確認した（図９）。

３）長期保存安定性

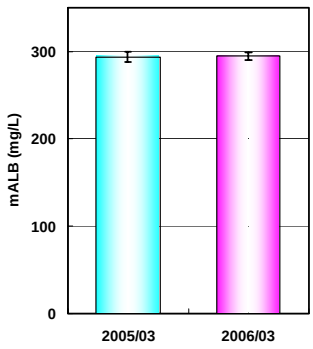
prototype Ⅱは作製後１年目を迎える。純水を添加、同一システムにより 10 回同時測定した結果、１年後においても濃度差がみられず、高い安定性が維持されていることが示された（図 10)。しばしば、アルブミンは液状内での保存は重合化、尿中ではさらにフラグメント化を起こす。Western blots の解析では、いずれの変化も見られず単一バンドを示した（データ提示せず)。prototype Ⅰ は２年目を迎えており、こちらも安定性を維持している。両ロットについて引き続き安定性をフォローする予定である。

図9 純水溶解後の安定性



分析機： Hitachi automated analyzer model 7170
試　料： Prototype Ⅱ
試　薬： m-ALB 試薬･K「ｺｸｻｲ」（免疫比濁法, Sysmex Corp.

図10 作製後1年目の濃度安定性



(mg/L)

Date	Mean ± 2SD
2005/03	293.74 ± 5.92
2006/03	294.72 ± 4.74 (100.3%)

mAlb: monomeric albumin

５－４．製品規格書策定

Prototype Ⅰ、Ⅱの研究結果を踏まえ、尿アルブミン常用標準物質に相応しい規格を策定した。また、Prototype Ⅱの性能を測定したところ、すべての項目において規格に合格した（表１）。

表1 尿アルブミン、総蛋白測定常用標準物質規格

項　　目	規　　格	確 認 値
1．適用範囲	本品はヒト尿試料を対象とする常用校正物質として使用することを目的とする。 対象となる測定方法は、以下の1）～3）とする。 1）尿総蛋白定性法（試験紙法） 2）尿総蛋白比色定量法 3）尿中ｱﾙﾌﾞﾐﾝ定性法（試験紙法） 4）尿中ｱﾙﾌﾞﾐﾝ免疫測定法	 反応挙動/適合 反応挙動/適合 反応挙動/適合 反応挙動/適合
2．原料 2－1．起源	ヒト血清を起源とする。	ヒト血清/適合
2－2．基材	ヒト血清ｱﾙﾌﾞﾐﾝ	ヒト血清アルブミン/適合
2－3．添加剤	緩衝材および安定化剤を添加する。	規格に従う/適合
2－4．感染物質	本品は、原料であるヒト血液のＨＢｓ抗原、ＨＣＶ抗体、ＨＩＶ－１抗体および2抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていること。 注意）感染性物質の検査で陰性の結果を得ていても、感染の可能性を完全に否定できるものではありません。また、それ以外の感染性物質の検査は実施していませんので、感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分に注意して取り扱う。	HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体の検査を行い、陰性の結果を得た。/適合
3．特性 3－1．形状	凍結乾燥品	白色固形の凍結乾燥品/適合
3－2．包装	ガラスバイアル、2ml（使用時）の単品	規格に従う/適合
3－3．反応性	ヒト尿と同様な挙動を示す。	・反応性試験実施中
3－4．物理学的性質 3－4－1．分子量	SDS-PAGEで６７ＫＤａである。	SDS-PAGEで６７ＫＤａであった。/適合
3－4－2．純度	HPLC分析で９５%以上。	99.7%の純度を示した。/適合
3－5．安定性 3－5－1．開封前の安定性	1）有効期間：5年（10℃以下冷蔵）を目標とするが、最終的には安定性試験終了後に決定する。 2）有効期間内でのモノマーアルブミン残存量は９５%以上である。	・保存安定性試験実施中 ・保存安定性試験実施中
3－5－2．開封後の安定性	１０℃以下の保管で8時間使用できる	10℃以下および25℃保存で少なくとも溶解後20時間は使用可能であった。/適合
3－6．均一性	1）１０バイアルの3回反復測定を行い、そのときのﾊﾞｲｱﾙ間差は±３%以内とする。 2）不確かさを表記する	バイアル間差は CV = 1.19% (n=10 vial) であった。 Sysmex社測定システムによる測定を行った結果、ALBは293.7mg/lであった。
4．アルブミン濃度	使用時に３００±５０mg/dLとする。	Sysmex社測定システムによる測定を行った結果、ALBは293.7mg/lであった。

６．共同実験

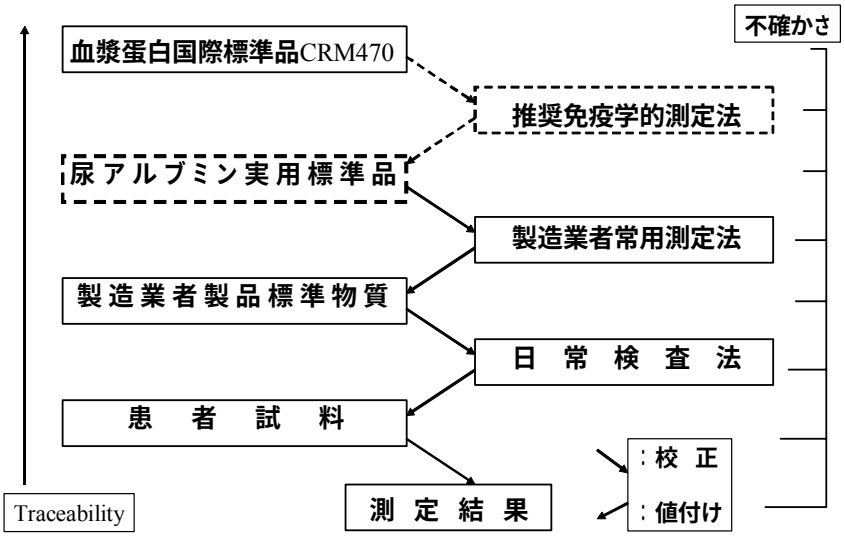
６－１．値付け

尿アルブミン測定の実用標準物質試作品（Prototype Ⅱ）への認証値設定を目的とし、国際指針 ISO GUIDE 35（標準物質の認証のための通則及び統計学的原則の記述を目的とした国際指針）に従う値付け共同実験の準備段階として、既存測定キットの測定法間差の現状を解析し、CRM470 を基準とする補正効果の検証を試みた[6,7]。本来ならば、実用標準物質を上位標準物質とすべきであるが、実用標準物質が完成していないので、暫定的に CRM470 を上位標準物質として値付けを行った。

CRM470 の表示値は 39.7 mg/dl と定められている。SDS-PAGE, Western blots によりアルブミンの分子サイズを検討した。この結果、単量体から構成されることが確認された（データ提示せず）。

尿アルブミン測定のトレーサビリティ連鎖において、Prototype Ⅱ は、CRM470（アルブミン濃度 39.7mg/dl）を上位の標準物質とし、尿アルブミン測定キット製造業者製品校正物質が下位に位置する常用標準物質である（図 11）。

図11 尿アルブミン測定のトレーサビリティ連鎖体系



今回取り上げた測定法は、12 社の尿アルブミン測定法 14 キットであり、そのうち 1 キットは直線性試験に問題が認められたため除外し、13 キットの測定法とした。また、Prototype Ⅱは 200 mg/L になるように調製溶解した×1 倍試料を、×２倍、×4 倍に希釈した３種類、および、CRM470 を×200 倍、×400 倍、×800 倍に希釈した 3 種類、の計 6 種類の検討用試料であり、試料の希釈誤差は化学天秤を用いた重量法により補正した。キットごとの測定は、各キット添付の検量用標準物質にて、Prototype Ⅱの 3 試料と CRM470 の 3 試料のそれぞれを 1 日 3 バイアル各 5 重測定し、全測定値から測定法間差（キット間差）を含めた変動要因の現状を解析した。

尿アルブミン測定の既存測定キットの方法間差の現状は、変動係数 CV 値で 8.0～22.8%であり、要因別変動のほとんどが測定法間差（キット間差）に起因していた（図 12)。その他の変動要因として、測定法の直線性や反応性に一部問題を認めたキットや、試料調製誤差が補正しきれていない製造メーカーの存在などを認めたものの、それらは測定法間変動に比べるとそれほど大きな要因とはいえなかった。このことは、各社キットの検量用標準物質の表示値のずれの存在を示唆するものであり、上位標準物質の共用による誤差変動の縮小効果が期待できる結果といえる。

そこで、CRM470 の認証値に基づき、キットごとの CRM470 測定値から補正係数を算出し、それによる Prototype Ⅱ測定値の補正後の収束状況を確認した（図 13)。Prototype Ⅱ測定値は、補正前が平均値 183.6mg/l で測定法間変動が CV 値 7.9%であったものが、補正後には平均値 196.6mg/L で測定法間変動が CV 値 4.3%となり、正確さ・精密さともに改善された結果となった。

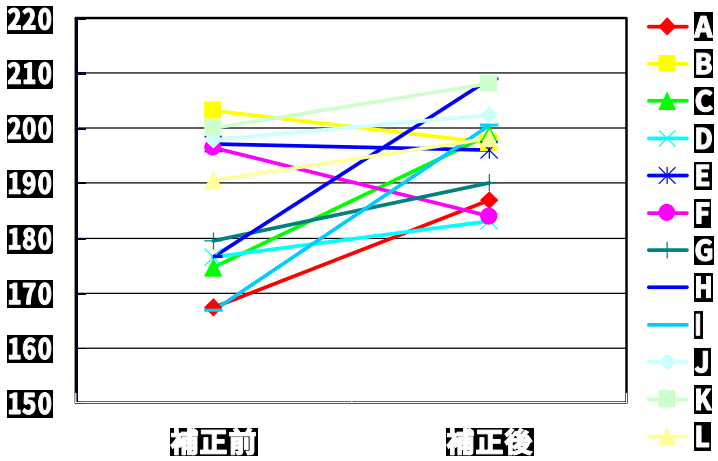
以上より、Prototype Ⅱは実用標準物質としてその有用性が期待できる成績であった。

図12 アルブミン測定値の方法間変動要因の現状

Prototype II 濃度	平均値 mg/L	測定法間 S.D	測定法間 C.V%	バイアル間 S.D	バイアル間 C.V%	測定法内 S.D	測定法内 C.V%	総合誤差 S.D	総合誤差 C.V%
× 1	183.7	14.6	7.9	1.0	0.5	1.6	0.9	14.7	8.0
× 2	92.7	11.1	12.0	1.0	1.1	1.0	1.1	11.2	12.1
× 4	46.9	10.7	22.7	0.7	1.4	0.6	1.2	10.7	22.8

Prototype IIの 3 濃度の希釈試料を、13種の測定法により、1日 3 vial を 5 重 測定した測定値に、二段枝分れ分散分析を適用した解析結果

図13 尿アルブミン測定値の CRM470 による補正効果



６－２．尿アルブミン定量測定以外の検査法への適用のための基礎検討

本標準品について尿蛋白試験紙、尿アルブミン試験紙、尿総蛋白定量測定における反応性を検討した。

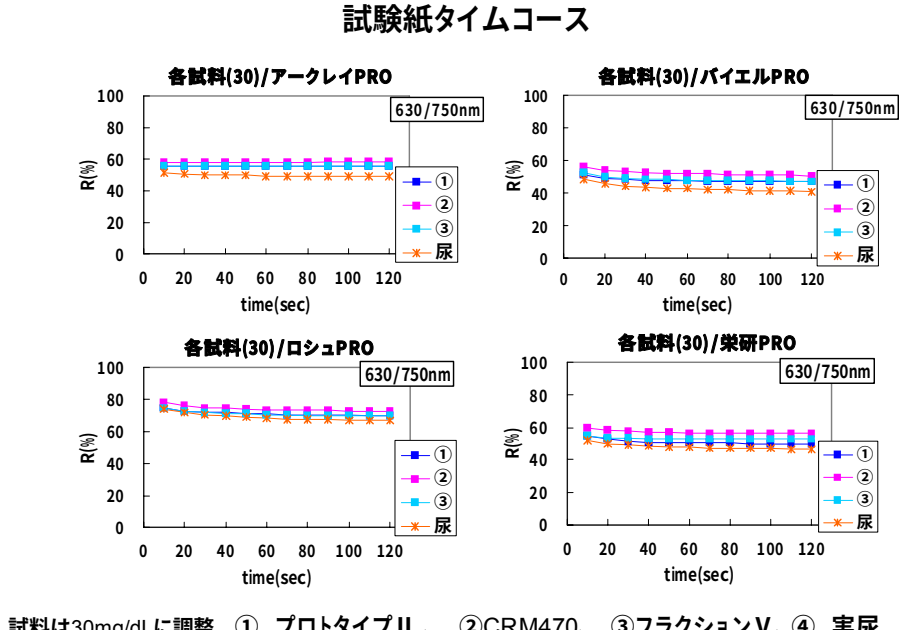
今回は尿試験紙メーカー国内主要メーカー4 社（アークレイ、バイエル、ロシュ、栄研化学）の参加を得て、アークレイ社が中心となって分析を実施し、試料は標準品、CRM470, フラクション V（Sigma A1653、USA)、さらに実尿を用いた。試験紙法では目視判定、および色差計（CMS-35FS, 村上色彩技術研究所、東京）で精密測定を行った。

尿蛋白検査は 30mg/dl（300 mg/l、標準仕様濃度)に、尿中アルブミン試験紙検査は 150 mg/l にそれぞれ濃度調整した。尿蛋白検査では目視、色差計（反応スペクトラム、タイムコース）共に、実尿も含めそれぞれの試料の反応挙動が、いずれの測定法においても一致した動きを示した。こ

こではタイムコースのみを示す（図 14)。

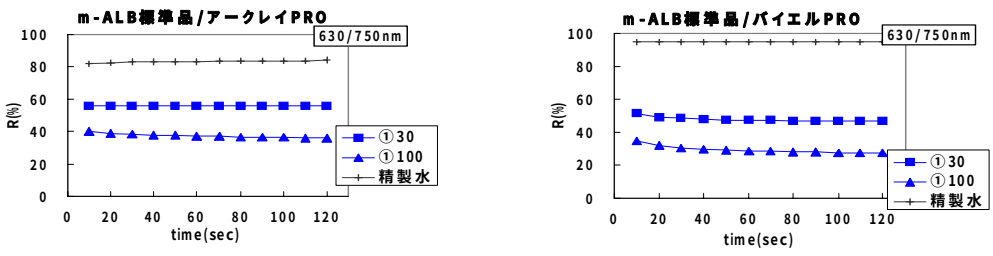
試験紙尿蛋白検査の判定基準について、JCCLS は 30mg/dl を 1＋と定めている。今回は新たに 1.2 ml の純水を添加して、２＋に相当する 100 mg/dl に調整して反応性の検討行った。２測定法においていずれも良好で、30 mg/dl と 100 mg/dl との間に並行性を示唆する所見が得られている（図 15)。尿中アルブミン試験紙検査も同様に良好な結果を得た（データ提示せず)。なお Prototype Ⅰで 0.5 ml 添加でも利用可能であることを定量法で確認しており、測定システムによるが、同様の仕上げである本標準品においても、120 mg/dl までの濃度調整は可能と思われる。最終標準品で確認予定である。

図14　尿蛋白試験紙検査法における反応性



試料は30mg/dLに調整　①　プロトタイプⅡ　②CRM470　③フラクションⅤ　④　実尿

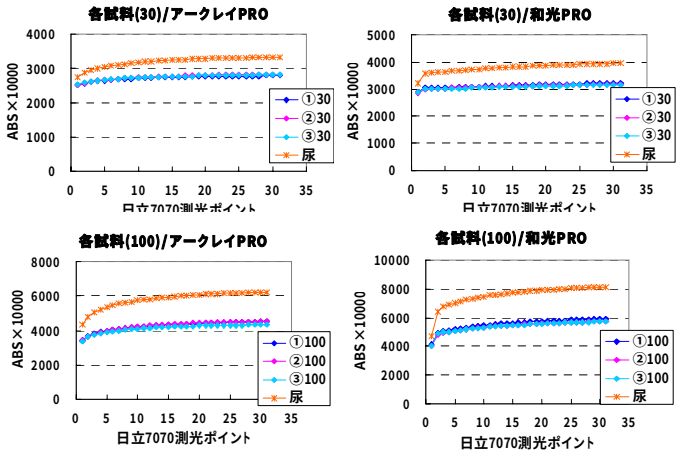
図15 最終濃度100mg/dlにおける反応性評価



最終濃度100 mg/dlに調整、標準濃度30mg/dLとの比較

総蛋白定量法についても、アークレイ（ブロモピロガロールレッド法)、和光純薬（ピロガロールレッド法）の２システムによる検討を行い、上記２濃度において標準品、CRM470、フラクション V は完全に一致、濃度の異なる実尿については高い並行性が得られ、挙動は一致していることを確認した（図 16)。
以上から本標準品は、試験紙法による尿蛋白測定、尿中微量アルブミン測定、尿総蛋白定量の標準品として有用であると判断される。

図16 総蛋白定量における反応性確認



試料は30mg/dL、100mg/dLに調整 ① プロトタイプⅡ、②CRM470、 ③フラクションV、濃度は異なるが実尿も同時測定

７．終わりに

尿中アルブミン測定法の標準化を目指して、予備研究、調査も含め過去４年間にわたり、測定値のばらつきの要因究明と縮小に努めてきた。
ばらつきに関与する因子は数多い。本来体液中のアルブミンはその物性、体液中のプロテアーゼによる分解、重合化により不均一であり、これらを全て測りこんで測定値として表している[1)]。多かれ少なかれ容器への非特異的吸着影響、測定システムの performance も重要な課題となる。最近では免疫学的に検出されない unreactive 成分の関与も知られる[8,9)]。実は検量物質の仕上げにも問題があり、重合化、フラグメント化したものも少なくない。このようなことも含め、全てに優先させて国際標準品を作製してここから総合的に測定標準化をはかることが唯一無二の解決策であり、これを念頭において作製を進めてきた。本標準物質は常用標準物質であり、WHO 標準標準物質から見て、3 次標準物質に位置づけられる。ヒト血清アルブミン高純度単量体から構成され、血清蛋白国際標準品 CRM470 から、正確に値付けできることが示され、広く国際的な利用に資する仕上げとして準備されてきている。

将来的には、尿アルブミン測定はもとより、尿総蛋白定量、尿試験紙蛋白検査、さらには髄液に至るまで、CRM470 と本標準品を仲立ちとした測定標準化体系の中で、測定法の違いの枠組みを超えて、互換性の高い検査値の比較検討から、さらに一層病態解析、補助診断、予後推定、フォ

ローなど共通基盤の上での臨床判断の充実が導かれることが大いに期待される。

８．文献

１） 平成 3 年度糖尿病調査研究報告書．厚生省，p320，1992

２） 伊藤機一．2004 年度 JCCLS 尿検査標準化委員会活動報告 p9，2004

３） Wiggins RC et al. Fragmentation and polymeric complexes of albumin in human urine. Clin Chim Acta 1985; 149(2-3): 155-163.

４） 渡津吉史、伊藤喜久．尿中微量アルブミン測定標準化．臨床化学 2004, 33(2)：27b-28b

５） 日本腎臓病学会．(GFR)・尿蛋白測定委員会報告書．日腎会誌 2002; 43(1):1-19.

６） Baudner S, et al. BCR information、Reference materials. Report Eur 15243, 1993.

７） 細萱茂美、桑克彦. キャリブレーターおよび QA 試料の不確かさプロトコール．臨床化学 2001; 30：112a-118a

８） Tanya M, Osicka, W.D. Comper. Chracterization of immunochemically nonreactive urinary albumin. Clin Chem 2004; 50(12): 2286-2291.

９） K. P. Gudehithlu et al. Degradation of albumin by the renal proximal tubule cells and the subsequent fate of its fragment. Kidney Int 2004; 65: 2113-2122.

謝辞

本研究の推進ご協力いただいた、日本臨床化学会、日本臨床検査標準協議会の各メンバー、日本臨床検査薬協会の下記に記す各社に御礼申し上げる。また、TOF MASS 分析をいただいた、旭川医科大学機器センター 阿久津 弘明氏に深謝する。

アークレイ株式会社、株式会社医学生物学研究所、栄研化学株式会社、株式会社カイノス、関東化学株式会社、極東製薬工業株式会社 、シスメックス株式会社、株式会社セロテック、デイド・ベーリング株式会社、デンカ生研株式会社、株式会社苫小牧臨床検査センター 、ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社、和光純薬工業株式会社

２－２－３－１６　膵型アミラーゼ

要旨

１）膵型アミラーゼ活性測定の常用基準法設定の基本方針は、抗ヒト S-AMY 抗体を用いて S 型アミラーゼ活性を阻害した後、残存した膵アミラーゼの活性を総アミラーゼ活性測定 JSCC 勧告法で行うことを基本とした。

２）２社、4 種類の抗ヒト S-AMY 抗体による S-AMY 活性阻害条件の検討を実施し、P-AMY 活性に全く影響なく、S-AMY 活性を９５％以上阻害する条件を確立した。しかし、阻害率が９５％以上が妥当かどうかについては今後の課題である。

３）抗ヒト S-AMY 抗体は被検体に予め添加処理するのではなく、アミラーゼ活性測定試薬を添加する方法とした。

４）JC・ERM（Lot005）は、膵型 AMY 活性測定の常用標準物質として使用できることが確認できた。

１．目的

アミラーゼは膵特異性が低く、膵疾患の診断には特異性の高い膵アミラーゼの測定が有用である。現在日常検査に用いられている膵型アミラーゼ測定法は、抗ヒトＳ抗体を用いたＳ型アミラーゼ阻害法が主流である。膵型アミラーゼ活性測定値は、測定に用いる基質の違いにより、その活性値は最大約２倍の差がある。

そこで、本プロジェクトでは、膵型アミラーゼ活性測定値における施設間差を縮小しデータの共有化を行うために常用基準法設定と標準物質の選択を目的とする。

２．委員会の構成

実用標準物質および常用基準法の開発：日本臨床化学会　酵素・試薬専門委員会膵型アミラーゼ活性常用基準法開発プロジェクト（委員長：白井秀明　関東労災病院検査科）

代　表　　白井秀明（関東労災病院検査科）
副代表　　桑　克彦（筑波大学臨床医学系）
　　関口光男（前日本大学板橋病院臨床検査部）
委　員　　大澤　進（九州大学医学部保健学科）
　　細萱茂美（山梨大学医学部附属病院検査部）
　　飯塚儀明（筑波大学附属病院検査部）
　　芳賀利一（三井記念病院中央検査部）
　　加藤隆則（株日立製作所日立健康管理ｾﾝﾀ）
　　斉藤友幸（筑西市民病院臨床検査科）
　　大貫経一（国立病院機構栃木病院研究検査科）
　　野村　博（ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱﾉｽﾃｯｸｽ株）
　　吉海　毅（臨床検査薬協会技術委員）
　　谷　　渉（HECTEF ｽﾀﾝﾀﾞｰﾄﾞﾚﾌｧﾚﾝｽｾﾝﾀｰ）

鈴木英明（第一化学株式会社）
花田寿朗（和光純薬工業株式会社）
足立　浩（ｱﾙﾌﾚｯｻﾌｧｰﾏ株式会社）
新井信夫（ｼｽﾒｯｸｽ株式会社）
顧　問　　渡辺伸一郎（東京女子医科大学）

３．委員会の開催

第５回プロジェクト委員会　　平成 18 年 12 月 4 日　（資料１）
共同実験　　平成 19 年 1 月 12 日から 13 日　（資料２）

４．標準物質の設定概要

４－１　実験計画

４－１－１　S 型 AMY 阻害試験法

S 型 AMY 活性の阻害率の確認と抗 S-AMY 抗体の至適添加濃度確認試験を以下に示す。

１）抗ヒト S-AMY 抗体は、Tu88E8 IgG（メイン抗体）と Tu66C7 IgG（サブ抗体）の混合抗体（A 社製）および MNHAMY-３（メイン抗体）と MNHAMY-２（サブ抗体）の混合抗体（B 社製）を用いる。

２）測定試料は、キャリブザイム AMY-S（ヒト唾液由来：C 社製）および
キャリブザイム AMY-P（ヒト膵液由来：C 社製）を用いる。

３）P-AMY 活性の測定試薬は、JSCC 常用基準法試薬（基質：EtG7-PNP）に抗ヒト S-AMY 抗体を添加した試薬を用いる。

４）阻害率の算出は、JSCC-AMY 常用基準法試薬で測定した吸光度（T-AMYAbs）を対照とし抗ヒト S-AMY 抗体を段階に添加した JSCC 常用基準法試薬ごとに阻害率を算出する。S 型 AMY の阻害率は、以下の式より求める。

阻害率（%）＝（BAbs－T-AMYAbs）／T-AMYAbs×100

BAbs　　：抗ヒト S-AMY 抗体添加試薬の吸光度
T-AMYAbs　：JSCC-AMY 常用基準法試薬の吸光度

５）抗 S-AMY 抗体至適添加濃度は、S 型 AMY が 95%以上阻害したときの添加量とする。

４－１－２　標準物質候補品を用いた反応性評価試験

標準物質候補品の反応性評価試験を以下に示す。

１）精密さの確認：ランダマイズ２回測定（50 件×2＝100 件）

２）相関分析：　(1) P-AMY 常用基準法（案）をＸ軸に、各社市販キットをＹ軸取り相関分析を行う。
(2) 患者血清：300-500 件を用いる。
(3) 各社のキャリブレーター，管理物質および P-AMY 測定用 ERM 候補品（JC-ERM　Lot005：各 5 重測定）

３）有意差検定：(1)管理物質の個々の Y の 95%信頼区間を用いる方法。

(2)相対残差の 100±5%を用いる方法。

４－２　実験方法

４－２－１　S 型 AMY 阻害試験法

１）測定試料

キャリブザイムＡＭＹ－Ｓ，ＡＭＹ－Ｐを用いた。なお、S 型 AMY，P 型 AMY の活性値を考慮し所定の溶解量および１／２容で溶解した試料についても実施した。

２）抗ヒト S-AMY 抗体

Tu88E8IgG，Tu66C7IgG の混合抗体および MNH AMY3，MNH AMY2 の混合抗体の２種を用いた。

３）分析装置と測定条件

汎用型生化学自動分析装置（日立 7180）を用い、表１の測定条件で実施した。

表１　　測定条件（日立 7180）

Assay type	RATE-A
反応時間	10 分
測定ポイント	27－34
測定波長（主／副）	405/660
検体量（μL）	8
試薬量 R1（μL）	200
試薬量 R2（μL）	40
K ファクター	10,000

なお、K ファクター＝10,000 は、吸光度算出のために用い、試薬ブランクのみ実施した。

４）測定試薬

JSCC-AMY 常用基準法試薬に抗ヒト S-AMY 抗体を添加して用いた。なお、抗ヒト S-AMY 抗体は、R1 試薬にのみ添加し、R2 試薬については、JSCC-AMY 常用基準法試薬をそのまま用いた。

①JSCC-AMY 勧告法試薬の調整

R1 試薬を 1000mL、R2 試薬 200mL を試薬終濃度（表２）になるように調整した。

表２　試薬終濃度

N-2-ﾋﾄﾞﾛｷｼｴﾁﾙﾌﾟﾛﾊﾟｼﾞﾝ-N'-ｴﾀﾝｽﾙﾎﾝ酸（HEPES）	50mmol/l
pH（37℃）	7.00±0.03
4.6-ｴﾁﾘﾃﾞﾝ(G1)-4-ﾆﾄﾛﾌｪﾆﾙ(G7)-α-(1->4)-D-ﾏﾙﾄﾍﾌﾟﾀｲﾄﾞ	
(ENM)	5mmol/l
塩化ﾅﾄﾘｳﾑ	70mmol/l
α-ｸﾞﾙｺｼﾀﾞｰｾﾞ(37℃)	135μkat/l(8100U/l)
試料容積比	0.03226(1:31)

②抗ヒトS-AMY抗体添加試薬の添加系列（表３）

抗ヒトS-AMY抗体のJSCC-AMY常用基準法試薬への添加は､R1試薬にのみ添加した。R2試薬は、JSCC-AMY勧告法試薬をそのまま用いた。抗ヒトS-AMY抗体の添加は、メイン抗体のみ，サブ抗体のみ，メイン抗体固定でサブ抗体およびサブ抗体固定でメイン抗体の段階系列試薬３２種を作成し用いた。添加量は、メーカーが推奨する添加量を１容とし、４倍容から０容まで添加して使用した（表３）。なお、メーカーが推奨する添加量終濃度は、Tu88E8IgG（メイン抗体）が１００mg/ｌ，Tu66C7IgG（サブ抗体）が１０mg/ｌでMNH AMY3（メイン抗体）が１０mg/ｌ，MNH AMY2（サブ抗体）が１０mg/ｌである。

表３　抗S-AMY抗体の添加系列試薬

添加量容（倍数）	ﾒｲﾝ抗体	ｻﾌﾞ抗体	ﾒｲﾝ固定＋ｻﾌﾞ（１容量）	ｻﾌﾞ固定＋ﾒｲﾝ（１容量）
４．０	○	○		
２．０	○	○	○	○
１．０	○	○	○	
０．９	○	○		
０．８	○	○		
０．７	○	○		
０．６	○	○		
０．５	○	○	○	○
０．４	○	○		
０．３	○	○		
０．２	○	○		
０．１	○	○	○	○
０．０	○			

○　は作成試薬

③抗ヒトS-AMY抗体添加試薬の調整

第一試薬の調整は、表４に抗ヒトS-AMY抗体添加試薬の調整方法の手順を示した。なお、

第二試薬は、JSCC -AMY 常用基準法試薬をそのまま使用した。

また、使用した測定試薬と検量用 ERM を表４に示した。

表4　測定試薬と検量用ERM

メーカー名	基質名	検量用ERM	試薬名
自製	EtG7-PNP	JC･ERM（Lot005）	P-AMY常用基準法案
関東化学	GalG2-CNP	トレースキャリブ	シカリキッドーＮ　Ｐ－ＡＭＹ
協和メディクス	GalG2-CNP	酵素キャリブレータ	デタミナーＬ　Ｐ－ＡＭＹ　Ｇ２
セロテック	GalG2-CNP	キャリブーＥＥ	ＡＭＩＳＯ－Ｇ２「セロテック」
東洋紡	GalG2-CNP	酵素キャリブレータ	ダイヤカラー･リキッド　Ｐ－ＡＭＹ
第一化学	GalG2-CNP	酵素キャリブレータ	ピュアオートＳ　Ｐ－ＡＭＹ－Ｇ２
東洋紡	GalG4-CNP	酵素キャリブレータ	ダイヤカラー･Ｐ－ＡＭＹダイレクト
ベックマン	BG5-PNP	理論ファクター	ｼﾝｸﾛﾝｼｽﾃﾑＰ－アミラーゼ試薬（CX/LX/DxC用）
シスメックス	BG5-PNP	酵素キャリブレータ	エルシステム･Ｐ－ＡＭＹ
アルフレッサ	BG5-PNP	酵素キャリブレータ	ネスコートＶＬ　Ｐ－ＡＭＹアイソザイム
和光純薬	BG5-PNP	酵素キャリブレータ	Ｌタイプワコー　Ｐ－ＡＭＹ
シノテスト	BG5-PNP	ｱｰﾙﾄｺﾝﾄﾛｰﾙ異常	クィックオート　ネオ　Ｐ－ＡＭＹ
セロテック	EtG7-PNP	キャリブーＥＥ	ＡＭＩＳＯ－ＥＬ「セロテック」
ロシュ	EtG7-PNP	C-fas	リキテックAMY･EPS

Ｒ－１試薬調製法

ﾒｲﾝ抗体，サブ抗体試薬調製方法

抗体量（倍率）	抗体液	JSCC試薬	最終液量
4.0	70	0	20
2.0	50	50	20
1.0	20	0	20
0.9	18	2	20
0.8	16	4	20
0.7	14	6	20
0.6	12	8	20
0.5	10	10	20
0.4	8	12	20
0.3	6	14	20
0.2	4	16	20
0.1	2	18	20
0.0	0	20	20

1）4倍濃度70mL調製 → 内20mLをそのまま4倍濃度で使用

↓

2）4倍濃度50mLをJSCC試薬50mLで希釈 → 内20mLをそのまま2倍濃度で使用

3）2倍濃度70mLをJSCC試薬70mLで希釈 → 内20mLをそのまま1倍濃度で使用

↓

4）1倍濃度120mLとJSCC試薬(90mL)で希釈系列を作製

JSCC試薬必要量	
(1)用	70
(2)用	50
(3)用	70
(4)用	90
Total	280

ﾒｲﾝ抗体＋ｻﾌﾞ抗体試薬調製方法

抗体量（倍率）	ｻﾌﾞ抗体液	希釈液	最終液量
2.0	35	0	20
1.0	15	15	20
0.5	10	10	16
0.1	4	16	20

1）JSCC試薬(80mL)にﾒｲﾝ抗体を規定量添加し、ｻﾌﾞ抗体液用(35mL)と希釈液用(45mL)に分取する。

2）ｻﾌﾞ抗体液用(35mL)に規定の2倍量のｻﾌﾞ抗体を添加 → 内20mLをそのまま2倍濃度で使用

3）2倍溶液の内15mLに希釈液用を15mL加えて混合する。→ 内20mLを1倍濃度で使用

4）1倍溶液の内10mLに希釈駅用10mL加えて混合する。→ 内16mLを0.5倍濃度で使用

5）0.5倍溶液4mLに希釈液16mLを加えて混合する

JSCC試薬必要量	
Total	80

ｻﾌﾞ抗体＋ﾒｲﾝ抗体試薬調製方法

抗体量（倍率）	ﾒｲﾝ抗体液	希釈液	最終液量
2.0	25	0	20
0.5	5	15	16
0.1	4	16	20

1）JSCC試薬(60mL)にｻﾌﾞ抗体を規定量添加し、ﾒｲﾝ抗体液用(25mL)と希釈液用(35mL)に分取する。

2）ﾒｲﾝ抗体液用(25mL)に規定の2倍量のﾒｲﾝ抗体を添加 → 内20mLをそのまま2倍濃度で使用

3）2倍溶液の内5mLに希釈液用を15mL加えて混合する。→ 内16mLを0.5倍濃度で使用

4）0.5倍溶液4mLに希釈液16mLを加えて混合する

JSCC試薬必要量	
Total	60

5）測定結果

抗ヒト S-AMY 抗体を用いた S 型 AMY の阻害結果を表５，６に示した。その結果、A 社製 Tu88E8IgG（メイン抗体）のみの添加で、既定（メーカーが推奨する終濃度）の終濃度（100.0mg/L）に対して 0.1～４倍量を添加したところ、S 型 AMY の阻害率は 72.9～95.9%であった。Tu66C7IgG（サブ抗体）のみの添加で、既定の終濃度（10.0mg/L）に対して 0.1～４倍量を添加したところ、S 型 AMY の阻害は確認できなかった。また、メイン抗体とサブ抗体を混合し添加したところ、既定の終濃度以上抗体を添加したときの阻害率は、いずれも 95%以上であった。さらに、P 型 AMY の阻害について検討した結果、いずれの添加量においても影響を受けることなく測定できた。

同様に B 社製抗体についても測定した結果、MNH AMY3（メイン抗体）のみの添加で、既定の終濃度（10.0mg/L）に対して 0.1～４倍量を添加したところ、S 型 AMY の阻害率は 51.7～91.0%であった。MNH AMY2（サブ抗体）のみの添加で、既定の終濃度（10.0mg/L）に対して 0.1～４倍量を添加したところ、S 型 AMY の阻害率は、22.4～26.4%であった。また、メイン抗体とサブ抗体を混合し添加したところ、既定の終濃度以上抗体を添加したときの阻害率は、いずれも 95%以上であった。さらに、P 型 AMY の阻害について検討した結果、いずれの添加量においても影響を受けることなく測定できた。

表5　A社抗体の阻害率

ﾒｲﾝのみ添加（倍）	阻害率（%）	ｻﾌﾞのみ添加（倍）	阻害率（%）	ﾒｲﾝ＋ｻﾌﾞ（倍）	阻害率（%）
0	0				
4	95.9	4	-1.4	1.0+2.0	97.2
2	93.7	2	-0.4	1.0+1.0	96.1
1	89.6	1	0.1	1.0+0.5	93.9
0.9	88.8	0.9	-0.1	1.0+0.1	92.6
0.8	87.9	0.8	0		
0.7	86.9	0.7	-0.3	2.0+1.0	97.3
0.6	85.7	0.6	0.3	0.5+1.0	94.5
0.5	84.1	0.5	-0.3	0.1+1.0	91.8
0.4	82.3	0.4	0.3		
0.3	79.8	0.3	-0.4		
0.2	77.0	0.2	0.2		
0.1	72.9	0.1	0.1		

表6　B社抗体の阻害率

ﾒｲﾝのみ添加（倍）	阻害率（%）	ｻﾌﾞのみ添加（倍）	阻害率（%）	ﾒｲﾝ＋ｻﾌﾞ（倍）	阻害率（%）
0	0				
4	91.0	4	26.4	1.0+2.0	99.9
2	84.4	2	25.8	1.0+1.0	98.4
1	75.8	1	25.3	1.0+0.5	98.2
0.9	74.2	0.9	25.9	1.0+0.1	96.2
0.8	72.4	0.8	25.7		
0.7	71.0	0.7	25.2	2.0+1.0	98.8
0.6	68.9	0.6	24.7	0.5+1.0	97.9
0.5	66.5	0.5	24.9	0.1+1.0	95.1
0.4	63.7	0.4	24.1		
0.3	60.5	0.3	23.8		
0.2	56.7	0.2	22.4		
0.1	51.7	0.1			

６）考察

A 社製抗体，B 社製抗体ともメイン抗体のみでは、S 型 AMY を十分に阻害できないことが確認できた。また、A 社製サブ抗体のみでは、S 型 AMY を阻害することはできなかった。B 社製サブ抗体のみでは、抗体量を増加しても約 25%の阻害であった。このことから、A 社，B 社ともメイン抗体とサブ抗体を組み合わせなければ S 型 AMY の阻害率を高められないことが確認できた。さらに、メイン抗体とサブ抗体を既定量以上添加することで、S 型 AMY の阻害率は 95%以上となることが確認できた。

抗ヒト S-AMY 抗体の添加量は、A 社製 Tu88E8IgG 抗体が 100mg/L 以上，Tu66C7IgG 抗体が 10mg/L 以上必要で、B 社製 MNH AMY3 抗体が 10mg/L 以上，MNH AMY2 抗体が 10mg/L 以上必要である。これらを満たしていれば S 型 AMY は、95%以上阻害できる。さらに標準物質の値付けには、その都度 S 型 AMY の阻害率を求め、P 型 AMY 活性値を補正すれば阻害率のバラツキを解消できると考える。

４－２－２　標準物質候補品を用いた反応性評価試験の共同実験

１）測定試料

反応性試験用試料は、JC･ERM（Lot005）および検量用 ERM8種を用いた（表7）。また、精密さの確認および相関分析に用いる患者血清は、日常検査で依頼された患者血清441検体を用いた。

表7　測定試薬の基質と検量用 ERM

キット番号	基質名	検量用 ERM
対照	EtG7-PNP	JC･ERM (Lot005)
1	GalG2-CNP	トレースキャリブ
2	GalG2-CNP	酵素キャリブレーター
3	GalG2-CNP	キャリブーＥＥ
4	GalG2-CNP	酵素キャリブレーター
5	GalG2-CNP	酵素キャリブレーター
6	GalG4-CNP	酵素キャリブレーター
7	BG5-PNP	理論ファクター
8	BG5-PNP	酵素キャリブレーター
9	BG5-PNP	酵素キャリブレーター
10	BG5-PNP	酵素キャリブレーター
11	BG5-PNP	ｱｰﾙﾄｺﾝﾄﾛｰﾙ異常
12	EtG7-PNP	キャリブーＥＥ
13	EtG7-PNP	C-fas

２）測定装置

日立モジュラーアナリティクスを用いた。

３）検討試薬

反応性評価に用いた P-AMY の試薬は、JSCC-AMY 常用法試薬に抗ヒト S-AMY 抗体を添加し調整した P-AMY 常用基準法案（自製試薬）を用いた。また、自動分析装置のパラメーターは JSCC　AMY 常用基準法の測定条件に一致するよう設定して用いた。なお、検量は JCERM（Lotoo5）を用い行った。

検討用試薬キットは表７に示したごとく P-AMY１３キットを用いた。なお、測定パラメーターはメーカーの指示に従い、検量は指定の検量用 ERM を用いて測定した。

４）反応性評価

①精密さの確認

精密さの確認は、患者血清 50 検体を用いたランダマイズ２回測定の測定値から、分散分析による標準偏差の期待値（σ＾）を求めた。

②相関分析

相関分析用の患者血清４３９検体を用い、x 軸に JCCLS-SOP 法の測定値を、y 軸に JSCC

常用基準法案１，２および試薬キットの測定値をとり相関分析を行い、相関係数ｒ，回帰式ｙ＝ａ＋ｂｘおよび推定値の標準誤差Ｓｙ･ｘをそれぞれ求めた。

③反応性試験用試料の測定

各試験試料を５重測定し、その平均値および標準偏差 SD を求めた。次に測定試料の推定値，残差（平均値－推定値）および相対残差（残差／推定値×100%）を求めた。

④反応性の確認

試験試料の反応性の確認は、個々の Y の 95%信頼区間を用いた残差の有意差検定法により行った。有意差検定は、試験試料の測定値（X_0，Y）が②項で求めた回帰式上の点（X_0, Y^）の予測区間に存在するか否かを確認した。

⑤相対残差の評価

各試料について相対残差を比較した。

５）結果（表８、９）

表８にランダマイズ２回測定による精密さの評価結果と JC・ERM の酵素反応性評価結果を示した。その結果、標準偏差の期待値σ^の大きさは、0.61～1.14U/L であった。JCCLS-SOP 法に対する各試薬の相関分析の結果は、相関係数ｒが 0.981～0.994，回帰式のｙ切片ａの大きさが-2.41～1.55U/L,傾きｂが 0.86～1.34 であった。また、JC･ERM（Lot005）の酵素反応性を JCCLS-SOP 法を対照とし各試薬について評価した結果、GalG2-CNP を基質とした５キットで 95%信頼区間を用いた残差が-29.23～-21.54U/L であり、相対残差の大きさは-16.73～15.06%であった。他の基質（GalG4-CNP，BG5-PNP，EtG7-PNP）では、95%信頼区間を用いた残差が-4.21～2.11U/L であり、相対残差の大きさは-2.26～1.24%であった。

表8 JC･ERM（005）の酵素反応性評価結果

試料名	JC･ERM005																
基質名	n=5		n	回帰式			推定値	残差	相対残差		95%信頼区間			総合	精密さ(n=50)	
	平均値	SD		r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy･x	σ^
JCCLS(SOP)	165.8	0.88	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	1.01	0.76
常用基準法案1	165.2	0.94	439	0.993	1.15	0.99	164.6	0.6	0.36	○	156.7	172.5	○	○	1.11	0.82
常用基準法案2	167	0.67	439	0.993	-0.05	1.01	167.4	-0.48	-0.29	○	159.1	175.8	○	○	0.92	0.73
GalG2-CNP	151.5	1.23	439	0.986	0.54	1.07	178.3	-26.85	-15.06	×	165.9	190.7	×	×	1.04	0.77
GalG2-CNP	150.3	0.72	439	0.988	-0.37	1.07	177.7	-27.33	-15.38	×	166.1	189.2	×	×	1.03	0.83
GalG2-CNP	160.7	1.94	439	0.981	0.64	1.1	182.3	-21.54	-11.82	×	167.2	197.4	×	×	1.1	0.81
GalG2-CNP	140.5	1.08	439	0.985	0.89	1.01	168.7	-28.22	-16.73	×	156.5	181	×	×	0.87	0.64
GalG2-CNP	146.9	1.98	439	0.986	0.2	1.06	176.1	-29.23	-16.6	×	163.7	188.6	×	×	1.26	0.96
GalG4-CNP	176.6	1.29	439	0.992	-1.65	1.09	179.1	-2.53	-1.41	○	169.5	188.7	○	○	1.1	0.89
BG5-PNP	223.4	1.14	439	0.994	0.54	1.34	222.6	0.83	0.37	○	212.6	232.6	○	○	1.29	1.14
BG5-PNP	168.8	0.83	439	0.992	-0.46	1.01	167.3	1.52	0.91	○	158.5	176	○	○	0.74	0.61
BG5-PNP	171.5	1.35	439	0.991	-2.41	1.04	169.4	2.11	1.24	○	159.9	178.8	○	○	1.23	1
BG5-PNP	182.6	1.49	439	0.993	-0.88	1.13	186.8	-4.21	-2.26	○	177.3	196.3	○	○	1.29	1.01
BG5-PNP	163.8	1.7	439	0.994	-1.19	0.99	162.8	1	0.61	○	155	170.6	○	○	0.93	0.76
EtG7-PNP	141.6	1.78	439	0.987	-1.7	0.86	140.8	0.82	0.58	○	131.2	150.3	○	○	1.19	0.93
EtG7-PNP	165.2	0.93	439	0.991	1.55	0.97	163.2	1.98	1.22	○	153.9	172.5	○	○	0.93	0.76

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

6）考察

JC・ERM（Lot005）の酵素反応性評価を行った結果、GalG2-CNP 基質を用いた試薬キットは、ヒト検体と酵素反応性が異なることが確認できた。また、JSCC 常用基準法案を含む他の試薬キットでは、JC・ERM の酵素反応性がヒト検体と同様であった。

JC・ERM の酵素反応性は、JSCC／JCCLS　AMY-SOP 法でも同様の結果が得られていることから､T-AMY と同じ取り扱いをすれば酵素標準物質として用いることができると思われる。

表9　自社製検量用 ERM の反応性評価

キット No.	基質名	相対残差	95%信頼区間	総合評価
1	GalG2-CNP	×	×	×
2	GalG2-CNP	×	×	×
3	GalG2-CNP	△	○	×
4	GalG2-CNP	×	×	×
5	GalG2-CNP	×	×	×
6	GalG4-CNP	○	○	○
7	BG5-PNP			
8	BG5-PNP	○	○	○
9	BG5-PNP	○	○	○
10	BG5-PNP	○	○	○
11	BG5-PNP	○	○	○
12	EtG7-PNP	○	○	○
13	EtG7-PNP	○	○	○

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
95%信頼区間の評価：○:±5%以内,×:±6%以上
総合評価：○：相対残差±5%以内，×：±6%以上

５．　実試料標準物質の作成プロトコル

５－１　トレーサビリティ連鎖

血清膵型アミラーゼ活性測定におけるトレーサビリティ連鎖を図１に示した。

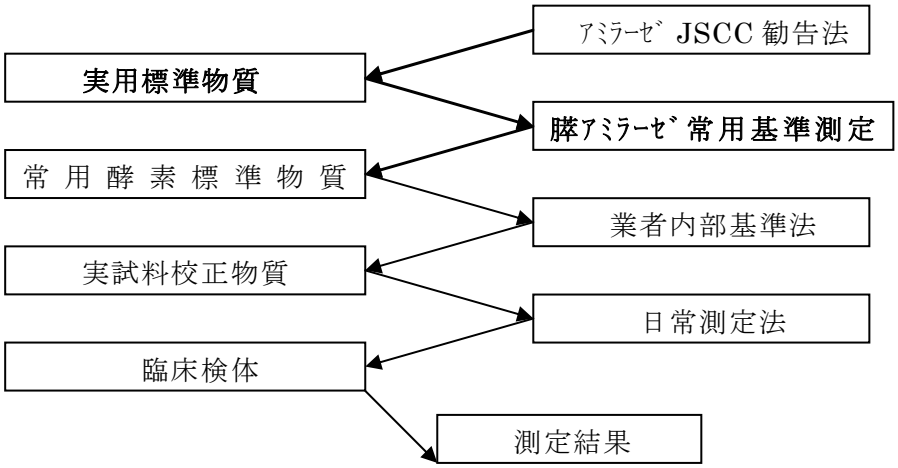


図１．膵アミラーゼ測定のトレーサビリティ連鎖

５－２　試料の性状規格

酵素反応性評価の結果、JC・ERM は膵型 AMY の酵素反応性が T-AMY と同様の反応性で有ったため、T-AMY と同様の使用方法を用いれば常用酵素標準物質として使用できる。

５－３　値付けの方法

今回は値付けには至っていないが、図１に示したトレーサビリティ連鎖に従って、標準物質の値付けが可能となる。

６．　今後の課題

以下の課題が挙げられる。

１）　血清膵型 AMY 常用基準法の測定操作法を文書化。

２）　ヒト膵アミラーゼ常用酵素標準物質としての JC・ERM の妥当性の確認と JC・ERM への値付け。

３）　基準範囲の設定。

２－２－３－１７　血清 C 反応性蛋白（CRP）

要旨

CRP 常用標準物質候補品を作製し、その基本性能を確認した。

その結果、平成 17 年度成果報告書に記載の標準物質規格満たしていた。５社の市販 CRP 測定試薬を用い、患者血清 60 例を測定し、その測定値を本標準物質候補品で補正を行ったところ、各社試薬間のばらつきが CV 値にして 5.0%から 1.5%に縮小し、測定値の収束効果が確認できた。

CRM470 を基準に作成されている各社標準物質によりキャリブレーションを行い患者血清を測定した場合の相関係数は r=0.998～1.000、本標準物質候補品を用いてキャリブレーションを行い患者血清を測定した場合の相関係数は r=0.998～1.000 と、CRM470 と同等の結果を得られることが確認できた。

１．目的

血清 CRP の測定は世界的に国際蛋白標準物質 CRM470 を標準物質とした測定体系が確立されつつある。しかし、CRM470 はその表示値設定において、プール血清に精製 CRP を添加し、WHO 標準品および CDC US NRP を基準として免疫比濁法、免疫ネフェロメトリー法、免疫拡散法の平均値によって設定されている。これは、WHO 標準品やアメリカ合衆国標準品から表示値の移行が適切になされてはいるものの、正確性の側面から鑑みると必ずしも充分な設定値であるとは言えない。特に低濃度域をカバーできる測定キットが普及してきた現在では、正確性の高い標準物質の供給が望まれている。

また、国内においてはリコンビナント CRP（r-CRP）の供給技術が開発され、r-CRP の安定供給が可能となり、SI 単位に繋げられる正確性の高い CRP 標準物質の作製が可能であると考える。

本プロジェクトでは SI 単位に繋げられる正確性の高い CRP 標準物質を作製し、CRP の測定トレーサビリティ鎖を確立することを目的とする。

１７年度までに CRP 実用標準物質および常用標準物質の候補品の作製を行った。今後は試作した候補品の品質評価を行い、測定トレーサビリティ鎖を確立する。

２．委員会の構成

藤田　孝（藤田保健衛生大学病院）
伊藤喜久（旭川医科大学）
長村洋一（藤田保健衛生大学）
中尾義喜（オリエンタル酵母工業㈱）
高田　卯（オリエンタル酵母工業㈱）
中根生弥（厚生連加茂病院）
山内昭浩（東海市民病院）

佐野俊一（愛知医科大学病院）
吉海　毅（ロシュ・ダイアグノスティックス㈱）
斉藤憲祐（デイドベーリング㈱）
佐藤悦子（(株)三菱化学ヤトロン）
北川文彦（藤田保健衛生大学病院）

３．委員会の開催

委員会としての開催は行っていない。必要に応じ電子メールにて討議を実施した。

４．標準物質の設定概要

４－１実験計画書

候補品完成に伴い、以下の性能評価試験を実施する。

①「値付け」

候補となる試料はＣＲＭ４７０を基準物質として､暫定的に汎用自動分析装置を用い日東紡績（株）の N-アッセイ LA CRP-S およびデイドベーリングの BN Ⅱを用いて実施する。

②「コミュータビリティ」およびキャリブレーション効果の確認

基準測定法を日東紡績（株）製キットＮアッセイ　LA　CRP-S（ニットーボー社）とし､5 社キットとの相関を、血清検体 50 以上を用いて求める。このとき、候補品である CRP 標準物質および CRM470 も同時に測定する。

③安定性試験

冷蔵状態で保存を行っている候補品について､1ヶ月毎にラテックス比濁法で測定を行い、安定性を確認する。

４－２共同実験

４－２－１測定試料

オリエンタル酵母工業㈱にて作成した CRP 標準物質候補品およびインフォームドコンセントにより同意の得られた患者血清。

４－２－２測定方法

①「値付け」

試作した候補品に対し、オリエンタル酵母工業㈱においてデイドベーリングのBNⅡで値付けを行った。

②「コミュータビリティー」およびキャリブレーション効果の確認

基準測定法をＮアッセイ　LA　CRP-S（ニットーボー）とし、ナノピア CRP（第一化学)、CRP ラテックス（Ⅱ）x2（デンカ生研)、イアトロ CRP-EX、イアトロ CRP（TIA)（ともに三菱化学ヤトロン)、デタミナーT CRP（協和メデックス）の 5 製品について n=60 で相関を確認した。

③安定性試験

平成 18 年 11 月に完成した候補品を１ヶ月ごとにラテックス比濁法および免疫比濁法で安定性を確認した。

４－２－３測定結果

①「値付け」

完成された候補品に対し、オリエンタル酵母工業㈱においてデイドベーリングのBNⅡで値付けを行った結果、5.2mg/dl であった。

②「コミュータビリティ」およびキャリブレーション効果の確認

１）患者血清 60 例に付き、５社の市販試薬について患者血清 60 例を測定するにあたり、各社指定の標準物質によるキャリブレーションと本標準物質候補品による補正を実施したところ、５社間の測定値のバラツキは補正なしでは CV 値 5.0％であったものが 1.5％に縮小し、キャリブレーション効果が確認された（表１)。

２）各社指定の標準物質により、キャリブレーションを実施し、CRM470 および CRP 標準物質候補品を測定した結果、CRM470 では 3.79～4.20mg/dl であった。また、CRP 標準物質候補品を測定した結果は 4.97～5.22mg/dl であった。

表１．本標準物質候補品による補正効果

標準物質 キット	補正なし（添付ｷｬﾘﾌﾞ） 測定値（mg/dl）＊	本候補品補正 測定値（mg/dl）＊
A社	1.90	2.00
B社	2.03	1.95
C社	1.82	1.92
D社	1.79	1.94
E社	1.86	1.95
平均値（mg/dl）	1.88	1.95
SD	0.094	0.03
CV（%）	5.0%	1.5%

＊：血清 60 検体の測定値の平均値を示した。

表２．各社試薬の相関（各社指定の標準物質）

相関	A	B	C	D	E	F
A	********	0.998	1.000	1.000	0.999	1.000
B	0.998	********	0.998	0.998	0.997	0.998
C	1.000	0.998	********	1.000	0.999	0.999
D	1.000	0.998	1.000	********	0.999	0.999
E	0.999	0.997	0.999	0.999	********	0.999
F	1.000	0.998	0.999	0.999	0.999	********

傾き	A	B	C	D	E	F
A	********	1.094	1.001	1.037	1.000	1.050
B	1.094	********	0.912	0.944	0.911	0.956
C	1.001	0.912	********	1.036	0.999	1.049
D	1.037	0.944	1.036	********	0.964	0.964
E	1.000	0.911	0.999	0.964	********	1.048
F	1.050	0.956	1.049	0.964	1.048	********

切片	A	B	C	D	E	F
A	********	-0.279	0.048	-0.075	0.089	-0.034
B	-0.279	********	0.308	0.197	0.347	0.236
C	0.048	0.308	********	-0.122	0.043	-0.079
D	-0.075	0.197	-0.122	********	0.160	0.160
E	0.089	0.347	0.043	0.160	********	-0.118
F	-0.034	0.236	-0.079	0.160	-0.118	********

３）基準測定法をＮアッセイ　LA　CRP-S（ニットーボー）とし、ナノピア CRP（第一化学）、CRP ラテックス（Ⅱ）x2（デンカ生研）、イアトロ CRP-EX、イアトロ CRP（TIA）（ともに三菱化学ヤトロン）、デタミナーT CRP（協和メデックス）の 5 製品について n=60 で相関を確認した結果、相関係数は r=0.998～1.000、傾きは 1.000～1.094、切片は-0.279～0.089 であった（表２）。

４）各社測定試薬を CRP 標準物質候補品によりキャリブレーションを実施し患者血清を測定した結果、相関係数は r=0.998～1.000、傾きは 0.953～1.035、切片は-0.010～0.086 であった（表３）。

各社試薬の相関（CRP 標準物質候補品）

相関	A	B	C	D	E
A	********	1.000	1.000	0.998	0.999
B	1.000	********	1.000	0.998	0.999
C	1.000	1.000	********	0.998	0.999
D	0.998	0.998	0.998	********	0.999
E	0.999	0.999	0.999	0.999	********

傾き	A	B	C	D	E
A	********	1.021	1.035	0.990	0.986
B	1.021	********	1.013	0.969	0.966
C	1.035	1.013	********	0.957	0.953
D	0.990	0.969	0.957	********	0.994
E	0.986	0.966	0.953	0.994	********

切片	A	B	C	D	E
A	********	0.016	0.021	0.086	0.073
B	0.016	********	0.004	0.069	0.056
C	0.021	0.004	********	0.064	0.051
D	0.086	0.069	0.064	********	-0.010
E	0.073	0.056	0.051	-0.010	********

③安定性試験

平成 18 年 11 月に完成した候補品を１ヶ月ごとにＮアッセイ　LA　CRP-S（ニットーボー）で安定性を確認した結果、3 ヶ月の平均値は 5.11mg/dl、CV%は 1.84%と安定性が確認された。

５．実試料標準物質の作製プロトコル

５－１試料の性状規格

原料：E.coli 培養液から精製した組換えヒト CRP

濃度：50±5mg/l の範囲

分子量：23kDa（SDS-PAGE による）
純度：単一バンドであること（SDS-PAGE による）
感染性：なし
有効期間：10℃以下の保存で２年を目標とする。
形状：凍結乾燥（１ml 用）

５－２値付けの方法

試作された試料は CRM470 を基準物質として、暫定的にデイドベーリングの BNⅡを用い、オリエンタル酵母工業㈱で実施した。

６．今後の課題

安定性試験において、未だ 3 ヶ月の成績しか得られておらず、今後継続した検討が必要である。また、多施設の協力により、普遍性を検討が必要であり、現在愛知県を中心に準備を進めている。また、今回の候補品は１濃度であるが、多濃度である必要も考えられる。

７．結び

試作した CRP 標準物質候補品について、その基本性能を確認した。その結果、本候補品を標準物質として用いることにより、市販の CRP 測定試薬のばらつき幅を縮小することが確認でき、常用基準物質としての機能を備えていた。また、患者血清を測定した場合に CRM470 と同等の相関、回帰式を得ることが確認でき、CRM470 に代る標準物質となり得る可能性が示唆された。

２－２－３－１８　　リパーゼ

要旨

１）日本臨床化学会リパーゼプロジェクト委員会では、血清リパーゼ活性測定の標準化を目的として、JSCC 常用基準法を設定するための作業を行い、JSCC 常用基準法（案）を準備することができた。

２）今回は、この JSCC 常用基準法（案）の測定値を日常検査法へ橋渡しするための標準物質を設定するための作業として、標準物質候補品の酵素標準物質（JC-ERM：Lot5）とヒト血清との反応性試験を行った。その結果、JC-ERM はヒト血清と反応性が異なることが確認された。そこで、本 JSCC 常用基準法（案）を改良することになった。

３）本 JSCC 常用基準法（案）を用いて血清リパーゼの基準法を求めたところ、７～４１ｕ／ｌであった。

1. 目的

現在、日常検査に用いられている血清リパーゼ活性測定法は、カラーレート法が主流であるが、その他に BALB-DTNB 法、比濁法、カラーレート法、EIA などが市販されている。その活性値は最大で約２倍の差があり、測定キットにより乖離検体が認められている。

そこで、本プロジェクトでは、測定法間差や施設間差を縮小し、データの共有化を行うことを目的に、基準となる JSCC 常用基準法を設定するための活動を行ってきました。その結果、常用基準法（案）を準備することが出来ました。

今回は、JSCC 常用基準法（案）と市販の日常検査用試薬キットを用いて、標準物質候補品の酵素標準物質（JC-ERM：Lot5）、各社の検量用物質の反応性評価試験を行った。

2.委員会の構成

本研究を迅速に達成するために研究構成員を選出し、実験を行った（表 1）。

表１．研究委員会

氏　　名	所属
委員長　　白井秀明	（独）労働者健康福祉機構関東労災病院検査科
副委員長　桑　克彦	筑波大学医学臨床系
委員　　関口光夫	元日本大学板橋病院臨床検査部
大澤　進	九州大学医学部保健学科
細萱　茂美	山梨大学医学部附属病院検査部
飯塚　儀明	筑波大学附属病院検査部
芳賀　利一	三井記念病院中央検査部
加藤　隆則	㈱日立製作所　日立健康管理センタ
斉藤　友幸	筑西市民病院臨床検査科
大貫　経一	栃木病院臨床検査科

3.委員会の開催

下記のとおり委員会を開催し、本研究の実施方法について検討した。

１）第 5 回 Lipase プロジェクト委員会

(1)日　時：平成 18 年 8 月 26 日（金）10：00～12：00

(2)場　所：第一化学薬品（株）本社（東京）8 階会議室

(3)出席者：白井、飯塚、野村、鈴木、今村、足立、黒谷、大和、山口、酒瀬川

(4)議　題：

①これまでの実験経過報告について

②今後の活動内容について

③(3)NEDO 委託事業の実験計画について

④その他

２）第６回 Lopase プロジェクト委員会

（１）日　時：平成 19 年 2 月 17 日（土）10：00～12：00

（２）場　所：第一化学薬品（株）本社（東京）8 階会議室

出席者：白井、飯塚、野村、鈴木、今村、足立、黒谷、大和、山口、酒瀬川、関口

（３）議　題：

①これまでの実験経過報告について

②問題点の抽出と今後の活動内容について

③その他

4.常用基準測定法および標準物質の設定

膵アミラーゼ常用基準測定法および標準物質設定のために 18 年度は下記の３テーマについての実験計画を作成し、実施した。

１．反応性評価試験

２．JSCC 常用基準法（案）のリパーゼ特異性試験

３．基準範囲の設定

４－１．反応性評価試験

４－１－１．目　　的：リパーゼ常用基準法（案）と市販測定キットを用いてリパーゼ測定用 ERM 候補品と患者血清を測定し、常用基準法（案）が ERM 候補品（JC-ERM）や患者血清に対して市販測定キットと同じ反応性を示すかを確認する。

４－１－２．実施内容

１）概要：

（１）精密さの確認：ランダマイズ２回測定（50 件×2＝100 件）

（２）相関分析：①リパーゼ常用基準法（案）；Ｘ軸、各社市販キット；Ｙ軸

②患者血清：300-500 件

③各社のキャリブレーター、管理物質およびリパーゼ、P-AMY 測定用 ERM 候補品（JC-ERM　Lot5）：各 5 重測定

２）有意差検定

①理物質の個々の Y の 95%信頼区間を用いる方法

②相対残差の 100±5%を用いる方法

3)検討試料:

相関用試料は、当院検査部に検査依頼のあった患者血清(389 件)を使用した。患者血清との反応性評価用試料は、酵素標準物質(JC-ERM:Lot5)、各社の検量物質をそれぞれ用いた。

４）測定方法

（1）測定装置：

日立 7180、モジュラーアナリティクスを用いた。なお測定ダイアグラムは、(1) 反応性評価法（JSCC 自動化法）：JSCC 常用基準法（案）に従い、検量は実測Ｋファクターを算出して実施した。(2) 検討法：試薬メーカーの標準操作法に従い、検量は各社指定の検量物質をそれぞれ用いて実施した。

（2）検討試薬：

①応性評価用試薬：JSCC 自動化法（案）を用いた。なお本法の試薬調製は、JSCC 常用基準法(案)による標準操作法案（JSCC-SOP 案）に従って、自製した。

②検討用試薬：以下に示した 5 社の 6 試薬キットを用い、試薬調製は、各試薬メーカーの指示どおりに行った。

ネスコート VN リパーゼ(AL-1:アルフレッサファーマ社製)、ネスコート VLⅡLIP(AL-2:アルフレッサファーマ社製)、リパーゼカラーオートテストワコー (WA:和光純薬社製)、カイノスオートシリーズリパーゼ試薬 (KN:カイノス社製)、デタミナーＬリパーゼⅡ (KY:協和メディクス社製)、リキテックリパーゼ・カラー (RD:ロシュ・ダイアグノスティックス社製)

５）評価方法：

（1）精密さの評価：患者血清 47 件を用いたランダマイズ２回測定法で、標準偏差の期待値（σ ^ ）をそれぞれ求めた。(2) 反応性評価法との相関：JSCC 自動化法（案）と検討用試薬による測定値の比較は、389 件の患者血清を用いて回帰分析により、相関係数（ｒ）、回帰式 y=a+bx を算出し、乖離検体の有無を確認した。(3) 反応性の評価：JSCC 自動化法（案）と検討用試薬による JC-ERM、各社の検量物質の反応性評価は、まず (2) 項で求め

た相関分析の結果と JC-ERM、各社の検量物質をそれぞれ 5 重測定した結果から、試薬キット毎に相対残差と個々の Y の 95%信頼区間を算出し、最終的に相対残差の±5%以下のときに、反応性評価（適）とした。

４－１－３．測定結果

1）精密さの評価：ランダマイズ 2 回測定による検討結果を表 1、図 1～7 にそれぞれ示した。

その結果、標準偏差の期待値（σ ^ ）の大きさは、JSCC 法で 1.76U/l、AL-1 で 0.40 U/l、AL-2 で 0.84U/l、WA で 0.88U/l、KN で 0.88U/l 、KY で 0.80U/l 、RO で 0.97U/l であった。

表 1　ランダイマイズ 2 回測定結果

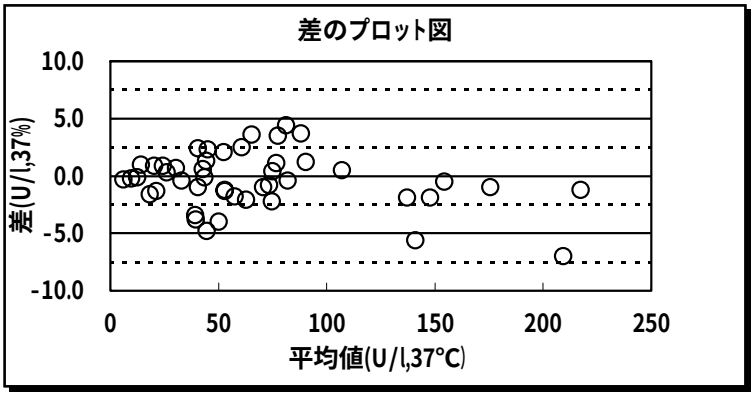
試料名	JCERM(Lot.005)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	206.4	0.55	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	67.6	0.28	389	0.8715	2.908	0.536	113.6	-46.03	-40.52	×	92.32	134.90	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	122.1	0.85	389	0.9017	13.244	1.050	230.0	-107.91	-46.92	×	194.45	265.49	×	×	0.98	0.84
3	B社	131.9	0.82	389	0.8823	3.959	1.011	212.5	-80.67	-37.95	×	174.52	250.58	×	×	1.07	0.88
4	C社	128.5	0.82	389	0.8732	4.573	0.990	209.0	-80.41	-38.48	×	169.97	247.94	×	×	1.16	0.88
5	D社	119.8	0.83	389	0.8882	11.885	1.028	224.1	-104.25	-46.52	×	186.55	261.59	×	×	0.88	0.80
6	E社	141.1	0.98	389	0.9015	12.858	1.053	230.2	-89.14	-38.72	×	194.56	265.88	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

図1　精密さ評価プロット図

自製JSCC-SOP試薬



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	66.78
S.D.x	51.19
平均値y	66.31
S.D.y	50.66
検体数	47
相関係数	0.99888
回帰式	y=0.290+0.989x
Sy・x	2.42
差のSD	2.39
差の平均値	-0.45
σ^	1.76

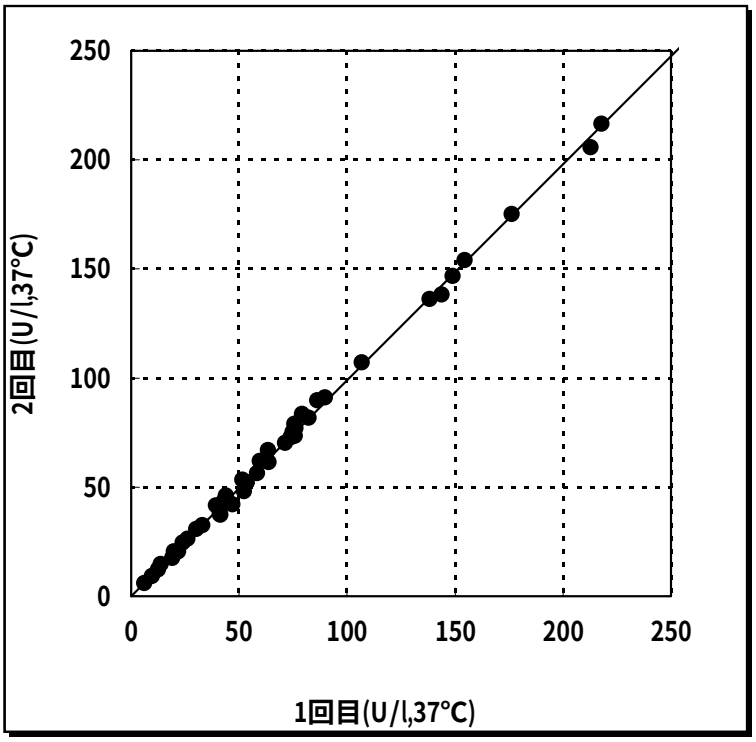
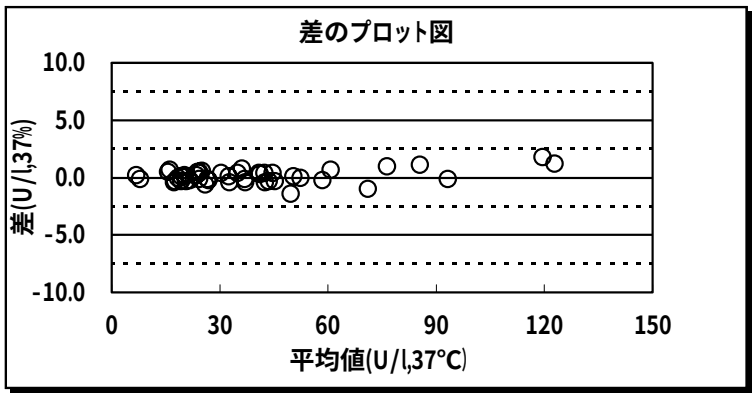


図２　精密さ評価プロット図

A-1社



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	38.81
S.D.x	25.83
平均値y	38.93
S.D.y	26.05
検体数	47
相関係数	0.99980
回帰式	y=-0.197+1.008x
Sy・x	0.53
差のSD	0.55
差の平均値	0.12
σ^	0.40

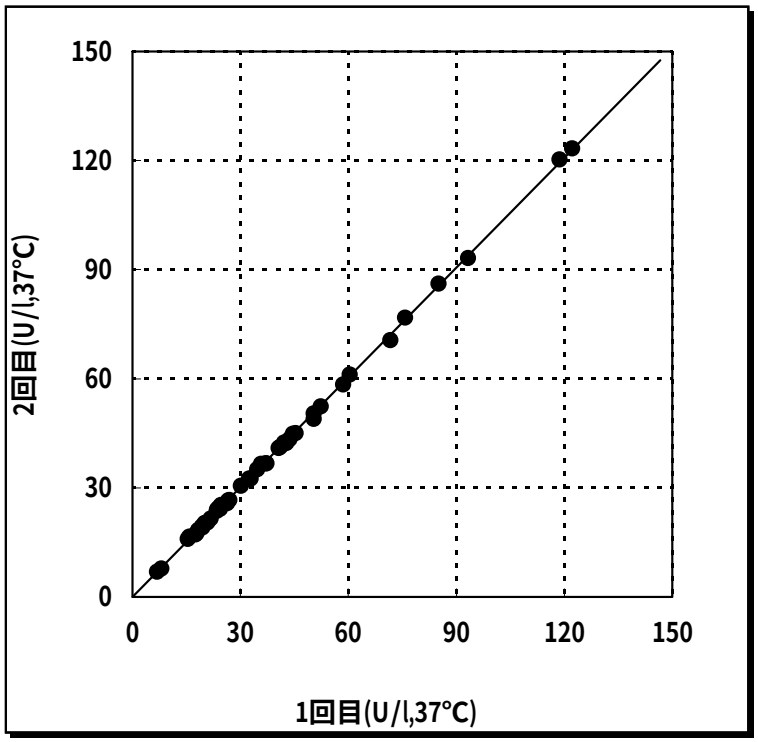
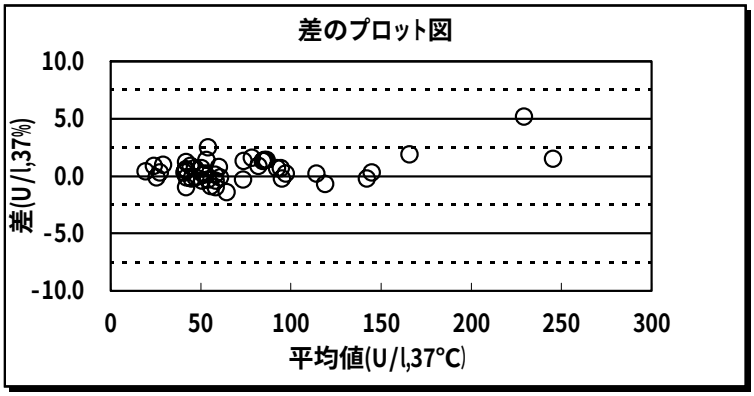


図３　精密さ評価プロット図

A-2社



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	73.06
S.D.x	47.21
平均値y	73.57
S.D.y	47.70
検体数	47
相関係数	0.99980
回帰式	y=-0.241+1.010x
Sy・x	0.97
差のSD	1.05
差の平均値	0.48
σ^	0.84

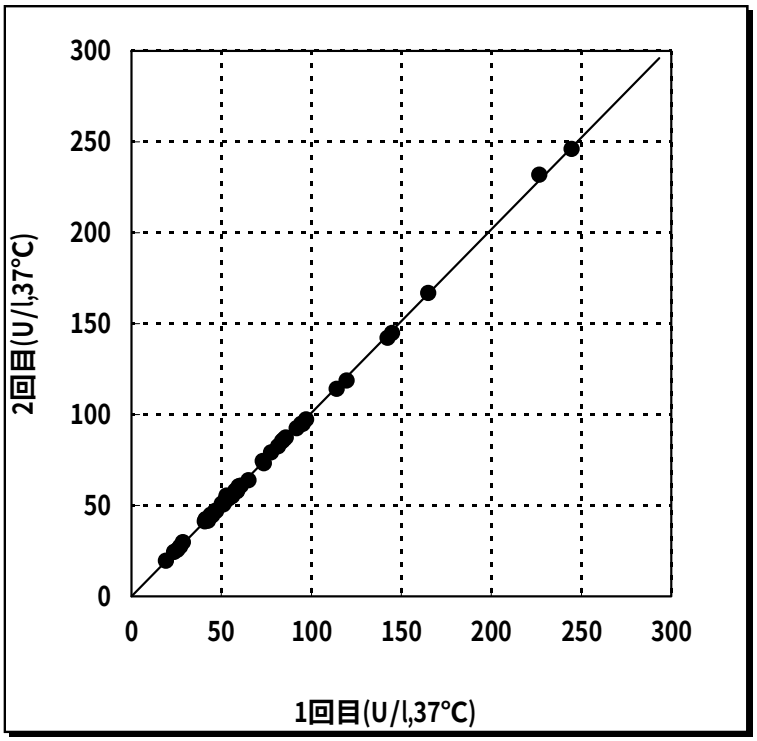
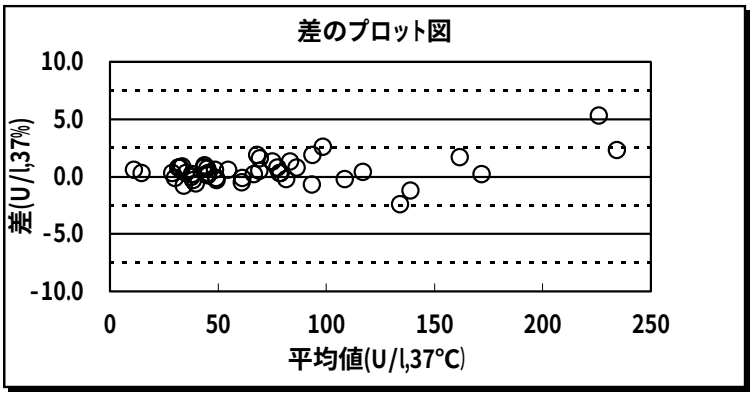


図４　精密さ評価プロット図

B社



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	72.27
S.D.x	48.93
平均値y	72.79
S.D.y	49.39
検体数	47
相関係数	0.99977
回帰式	y=-0.140+1.009x
Sy・x	1.07
差のSD	1.12
差の平均値	0.49
σ^	0.88

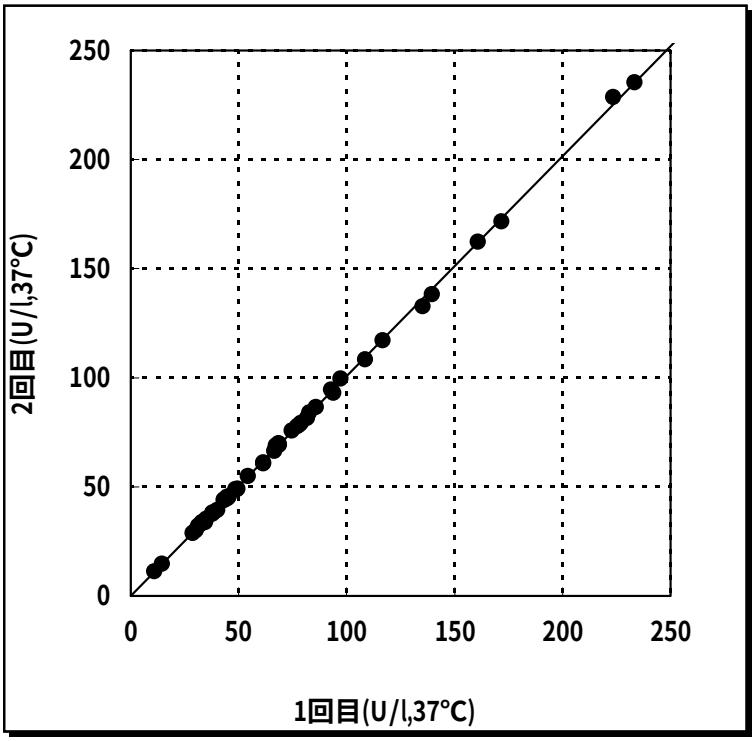
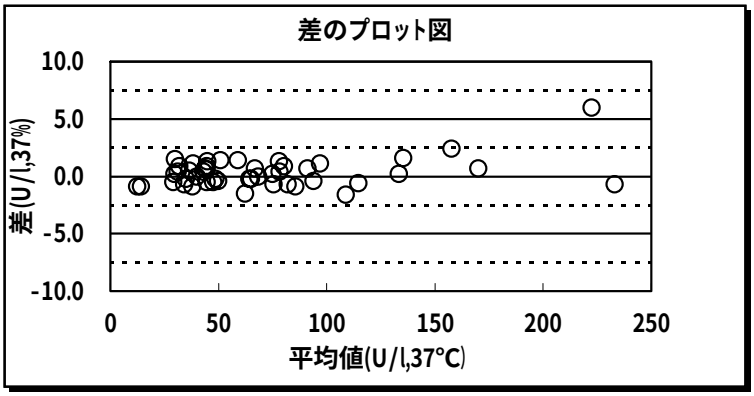


図５　精密さ評価プロット図

C社



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	71.28
S.D.x	48.32
平均値y	71.59
S.D.y	48.79
検体数	47
相関係数	0.99973
回帰式	y=-0.363+1.009x
Sy・x	1.15
差のSD	1.19
差の平均値	0.29
σ^	0.88

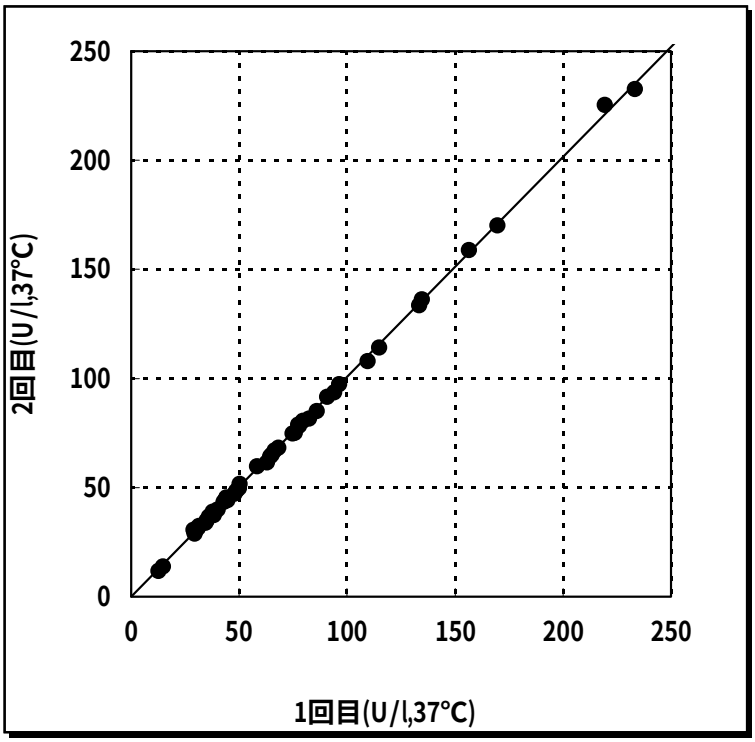
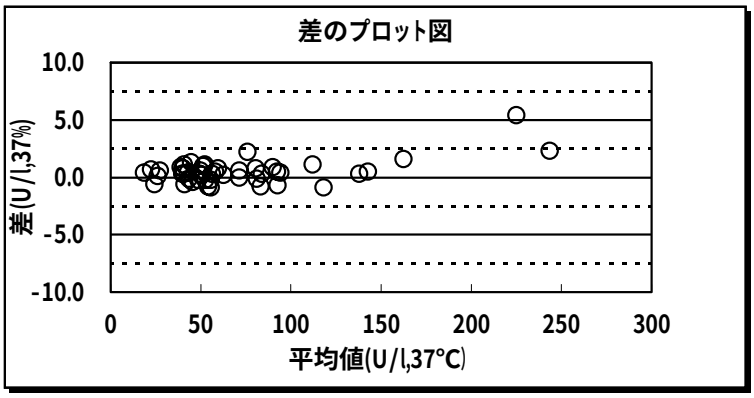


図６　精密さ評価プロット図

D社



(活性単位；U/l,37℃)

平均値x	71.04
S.D.x	46.78
平均値y	71.51
S.D.y	47.35
検体数	47
相関係数	0.99983
回帰式	y=-0.381+1.012x
Sy・x	0.87
差のSD	1.01
差の平均値	0.45
σ^	0.80

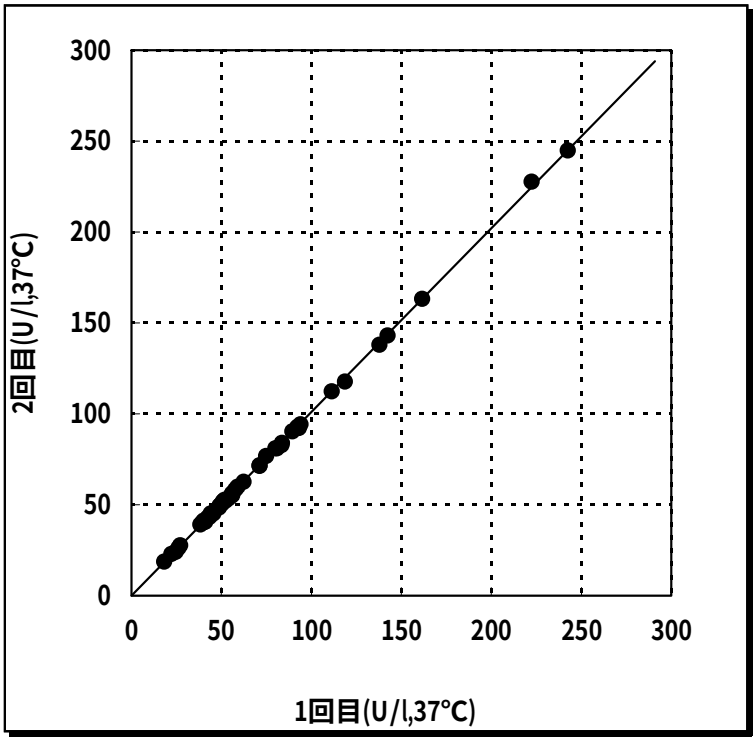
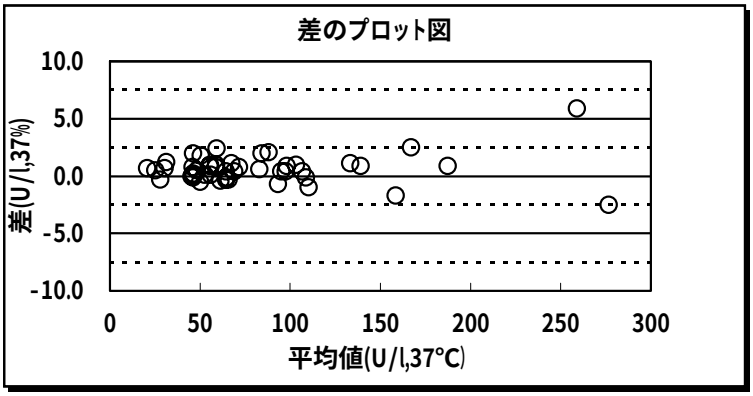
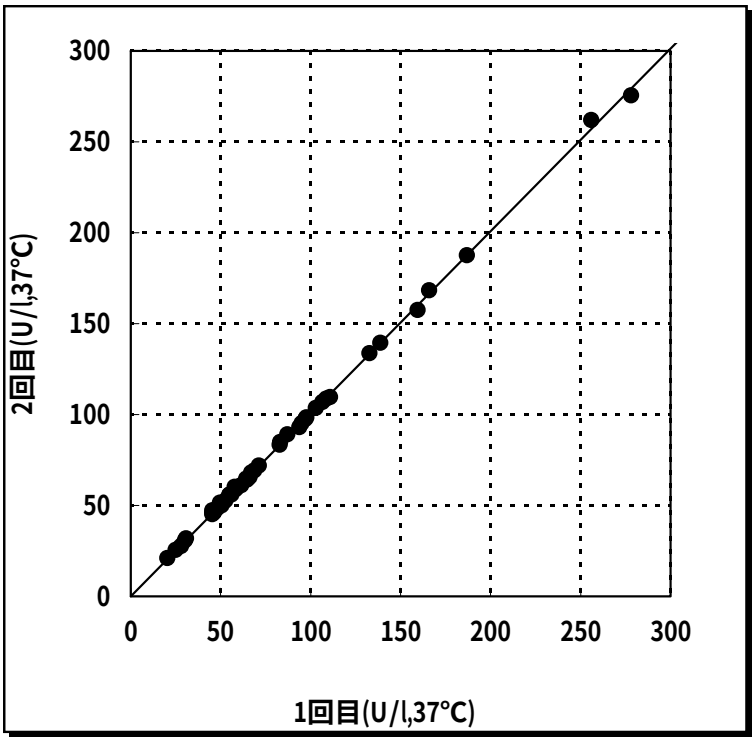


図７　精密さ評価プロット図

E社



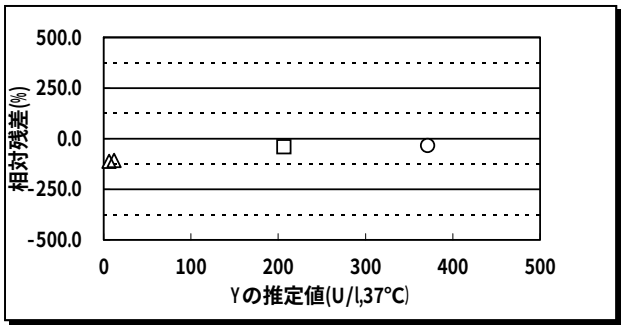
	(活性単位；U/l,37℃)
平均値x	82.12
S.D.x	54.19
平均値y	82.73
S.D.y	54.34
検体数	47
相関係数	0.99974
回帰式	y=0.399+1.003x
Sy・x	1.25
差のSD	1.21
差の平均値	0.57
σ^	0.97



2）JSCC 自動化法(案)との相関および反応性評価：JSCC 自動化法(案)と各社の試薬キットを用いて、多数の患者検体の測定値を比較した結果を、図 8～13 にそれぞれ示した。その結果、相関係数（ｒ）の大きさの範囲は 0.87～0.90 であった。回帰式の y 切片(a)の大きさの範囲は 2.91～12.9、傾き(b)の大きさの範囲は 0.54～1.05 であり、測定キットにより乖離検体が認められた。

図８　反応性評価プロット図

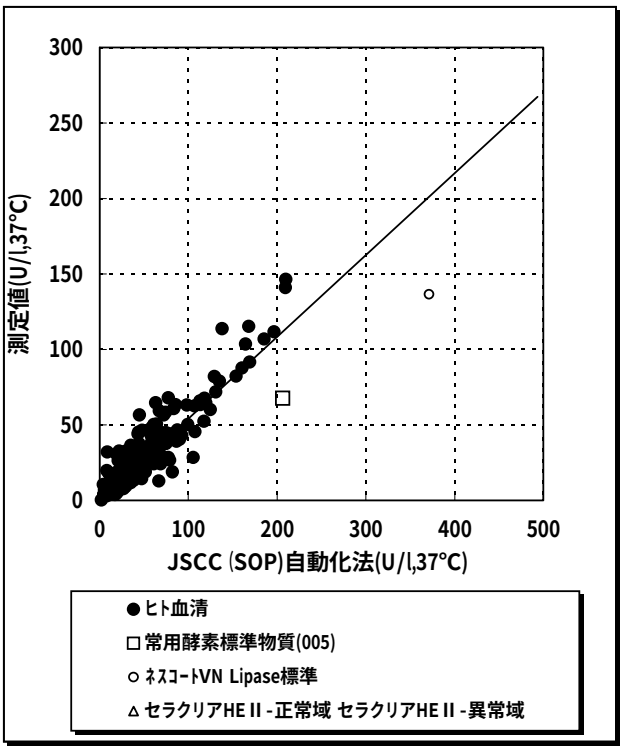
A-1社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-40.52
ﾈｽｺｰﾄVN Lipase標準	-32.42
セラクリアHE II -正常域	-111.77
セラクリアHE II -異常域	-106.38



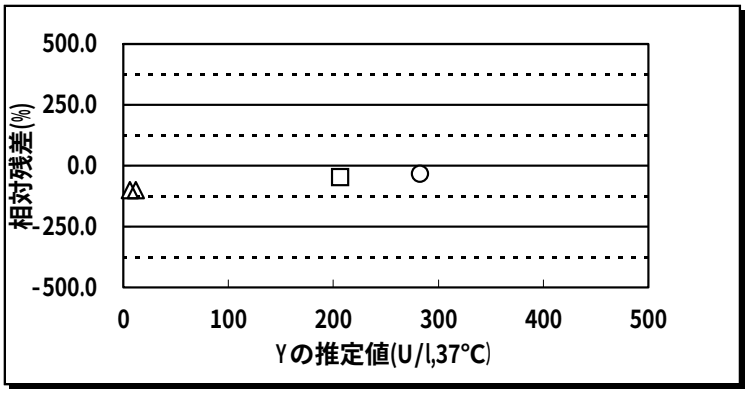
【校正効果】

	(活性単位;U/l,37°C)
平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	24.37
S.D.y	21.04
検体数	389
相関係数	0.8715
回帰式	y=2.908+0.536x
Sy･x	10.328

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	113.6	67.6	-46.03	-40.52
ﾈｽｺｰﾄVN Lipase標準	371.0	201.9	136.5	-65.46	-32.42
セラクリアHE II -正常域	6.0	6.1	-0.7	-6.84	-111.77
セラクリアHE II -異常域	12.1	9.4	-0.6	-10.00	-106.38

図９　反応性評価プロット図

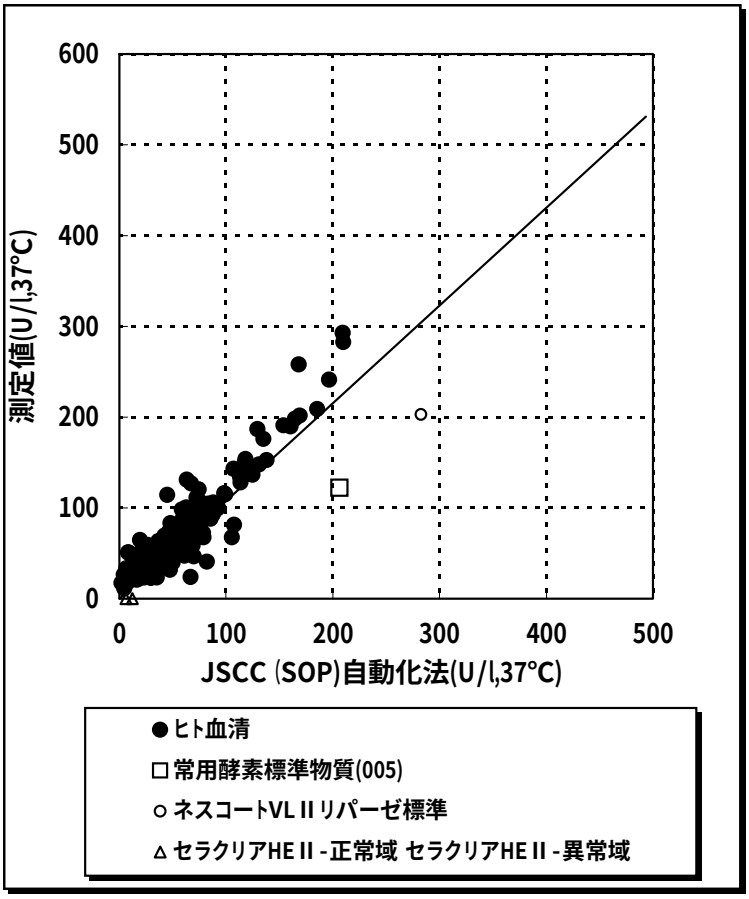
A-2社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-46.92
ネスコートVL II リパーゼ標準	-34.53
セラクリアHE II -正常域	-101.02
セラクリアHE II -異常域	-100.31



【校正効果】

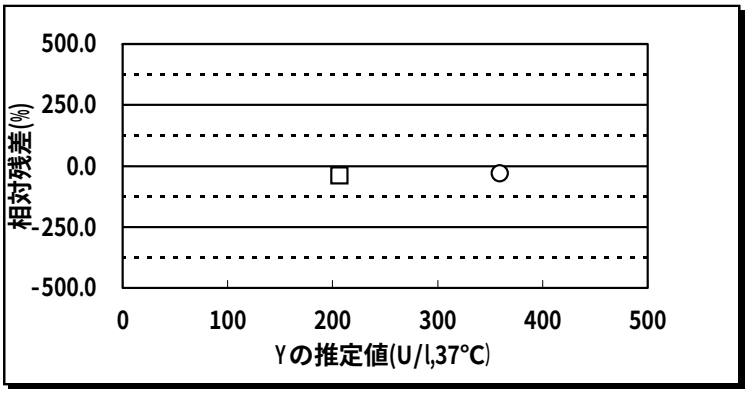
(活性単位;U/l,37℃)

平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	55.25
S.D.y	39.80
検体数	389
相関係数	0.9017
回帰式	y=13.244+1.050x
Sy・x	17.232

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	230.0	122.1	-107.91	-46.92
ネスコートVL II リパーゼ	282.7	310.0	203.0	-107.04	-34.53
セラクリアHE II -正常域	6.0	19.5	-0.2	-19.72	-101.02
セラクリアHE II -異常域	12.1	25.9	-0.1	-26.03	-100.31

図10　反応性評価プロット図

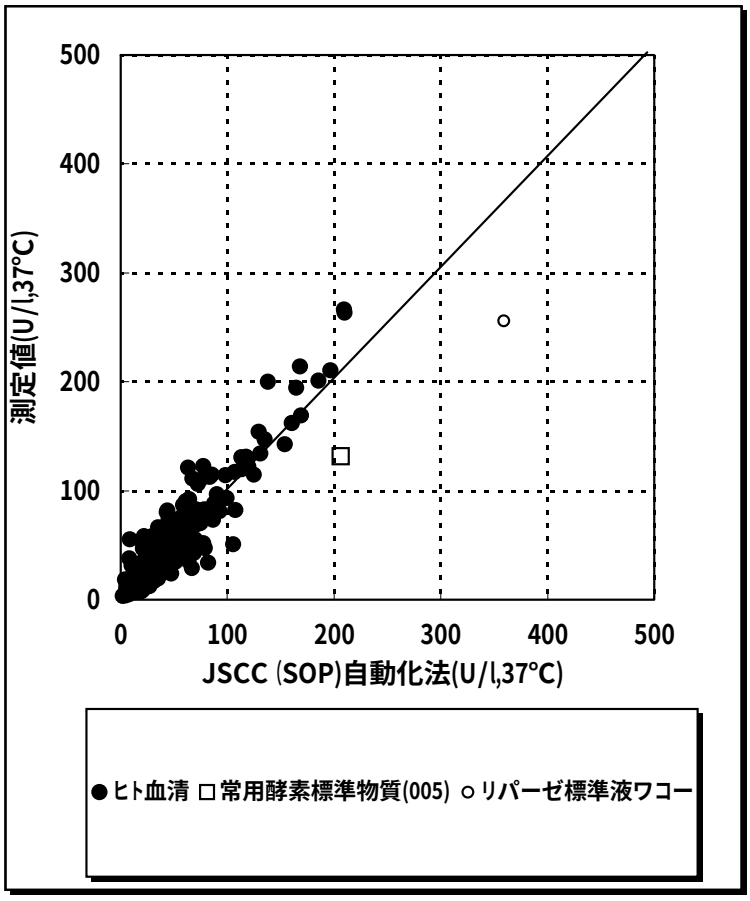
B社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-37.95
リパーゼ標準液ワコー	-30.22



【校正効果】

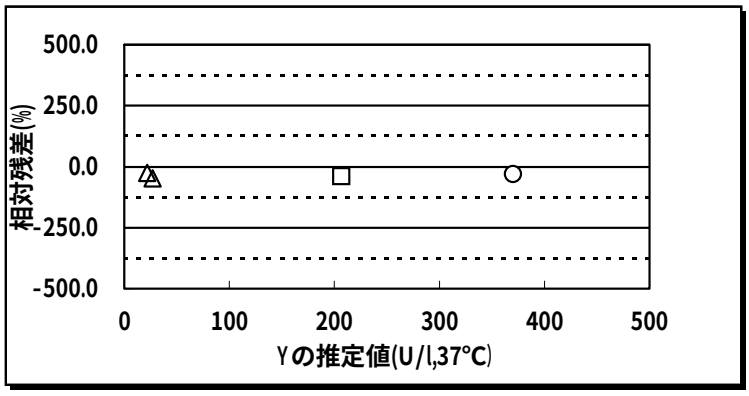
(活性単位;U/l,37℃)

平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	44.39
S.D.y	39.15
検体数	389
相関係数	0.8823
回帰式	y=3.959+1.011x
Sy・x	18.449

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	212.5	131.9	-80.67	-37.95
リパーゼ標準液ワコー	359.1	366.8	256.0	-110.87	-30.22

図11　反応性評価プロット図

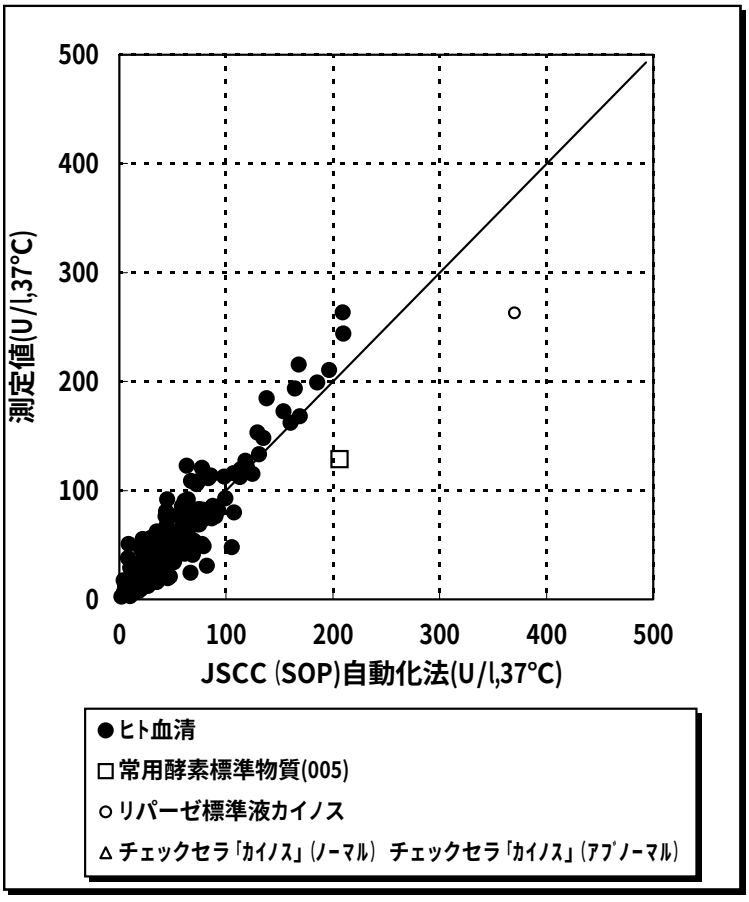
C社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-38.48
リパーゼ標準液カイノス	-29.15
チェックセラ「ｶｲﾉｽ」(ﾉｰﾏﾙ)	-47.57
チェックセラ「ｶｲﾉｽ」(ｱﾌﾞﾉｰﾏﾙ)	-26.49



【校正効果】

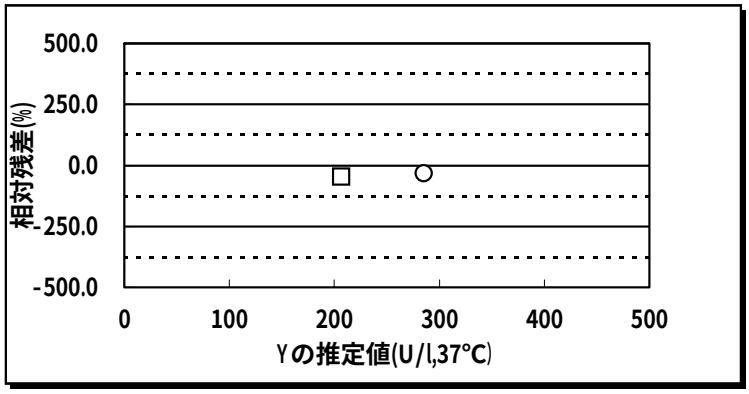
(活性単位;U/l,37℃)

平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	44.19
S.D.y	38.76
検体数	389
相関係数	0.8732
回帰式	y=4.573+0.990x
Sy･x	18.912

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	209.0	128.5	-80.41	-38.48
リパーゼ標準液カイノス	370.3	371.2	263.0	-108.19	-29.15
チェックセラ「ｶｲﾉｽ」(ﾉｰﾏﾙ)	26.8	31.1	16.3	-14.79	-47.57
チェックセラ「ｶｲﾉｽ」(ｱﾌﾞﾉｰﾏﾙ)	22.0	26.3	19.4	-6.98	-26.49

図12　反応性評価プロット図

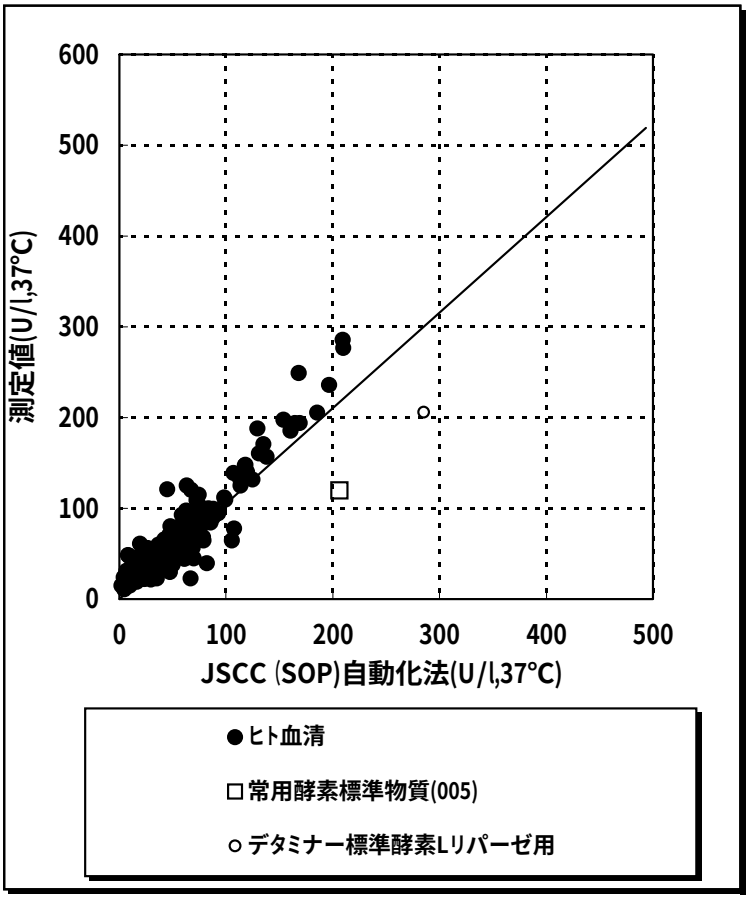
D社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-46.52
デタミナー標準酵素Lリパーゼ用	-32.52



【校正効果】

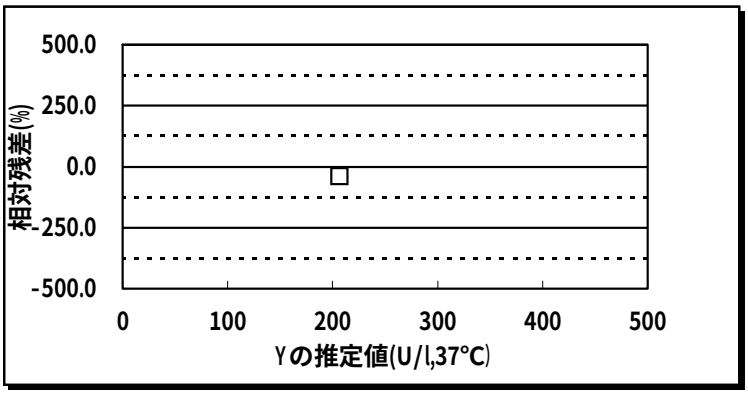
(活性単位;U/l,37℃)

平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	53.01
S.D.y	39.56
検体数	389
相関係数	0.8882
回帰式	y=11.885+1.028x
Sy・x	18.203

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	224.1	119.8	-104.25	-46.52
デタミナー標準酵素Lリパーゼ用	285.1	305.0	205.8	-99.17	-32.52

図13　反応性評価プロット図

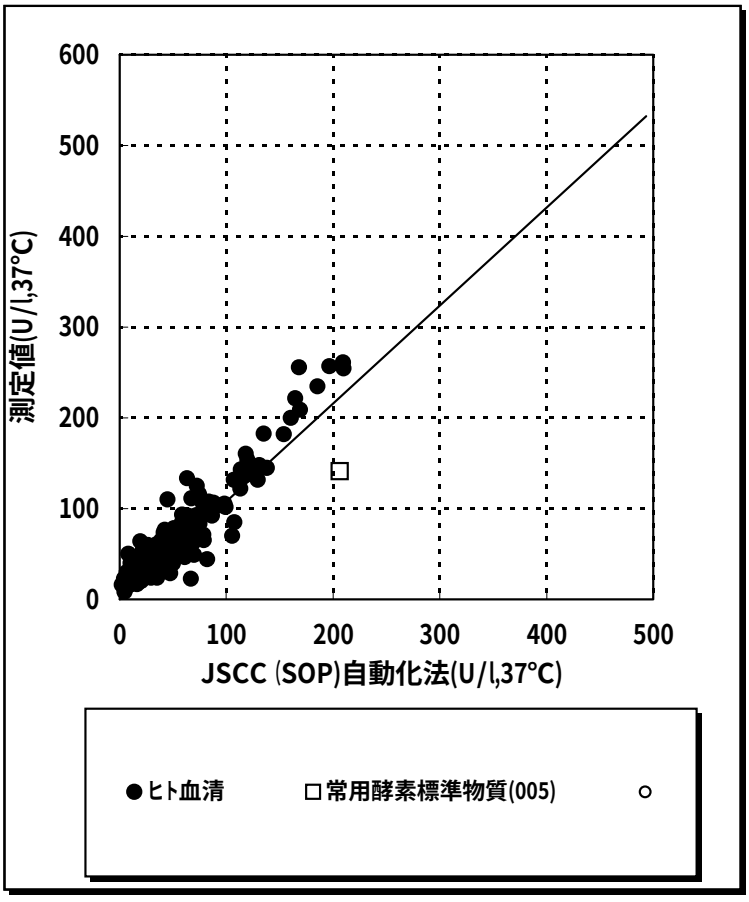
E社



【反応性評価】

(%)

試料名	相対残差
常用酵素標準物質(005)	-38.72



【校正効果】

(活性単位;U/l,37℃)

平均値x	40.01
S.D.x	34.18
平均値y	54.99
S.D.y	39.93
検体数	389
相関係数	0.9015
回帰式	y=12.858+1.053x
Sy・x	17.301

試料名	X;実測値	Y;推定値	Y;実測値	残差	相対残差
常用酵素標準物質(005)	206.4	230.2	141.1	-89.14	-38.72

JC-ERM、各社の検量物質を用いて反応性評価を行った結果を、表 2～7 にそれぞれ示した。その結果、JC-ERM における相対残差の大きさの範囲は、-46.9%～-38.0%となり、すべての測定キットで相対残差の±5%以内を満たすことはできなかった。さらに、個々の Y の 95%信頼区間での評価結果は、いずれの測定キットにおいても許容範囲を超えた結果であった。

また、各社の検量物質における反応性評価結果も同様であった。

表２　反応性評価結果

試料名	JCERM(Lot.005)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	206.4	0.55	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	67.6	0.28	389	0.8715	2.908	0.536	113.6	-46.03	-40.52	×	92.32	134.90	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	122.1	0.85	389	0.9017	13.244	1.050	230.0	-107.91	-46.92	×	194.45	265.49	×	×	0.98	0.84
3	B社	131.9	0.82	389	0.8823	3.959	1.011	212.5	-80.67	-37.95	×	174.52	250.58	×	×	1.07	0.88
4	C社	128.5	0.82	389	0.8732	4.573	0.990	209.0	-80.41	-38.48	×	169.97	247.94	×	×	1.16	0.88
5	D社	119.8	0.83	389	0.8882	11.885	1.028	224.1	-104.25	-46.52	×	186.55	261.59	×	×	0.88	0.80
6	E社	141.1	0.98	389	0.9015	12.858	1.053	230.2	-89.14	-38.72	×	194.56	265.88	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表３　反応性評価結果

試料名	ﾈｽｺｰﾄVN Lipase標準 (Lot.YE15)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	371.0	2.29	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	136.5	0.69	389	0.8715	2.908	0.536	201.9	-65.46	-32.42	×	177.89	225.94	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	239.7	1.61	389	0.9017	13.244	1.050	402.8	-163.12	-40.49	×	362.76	442.93	×	×	0.98	0.84
3	B社	265.8	1.05	389	0.8823	3.959	1.011	378.9	-113.12	-29.85	×	336.02	421.85	×	×	1.07	0.88
4	C社	263.9	1.10	389	0.8732	4.573	0.990	372.0	-108.10	-29.06	×	327.99	415.98	×	×	1.16	0.88
5	D社	239.9	1.61	389	0.8882	11.885	1.028	393.3	-153.46	-39.02	×	350.98	435.66	×	×	0.88	0.80
6	E社	284.4	0.78	389	0.9015	12.858	1.053	403.6	-119.16	-29.52	×	363.36	443.85	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表４　反応性評価結果

試料名	ﾈｽｺｰﾄVL II Lipase標準(Lot.YN25)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	282.7	3.50	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	126.1	0.27	389	0.8715	2.908	0.536	154.5	-28.39	-18.38	×	132.18	176.85	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	203.0	1.88	389	0.9017	13.244	1.050	310.0	-107.04	-34.53	×	272.78	347.31	×	×	0.98	0.84
3	B社	243.1	2.03	389	0.8823	3.959	1.011	289.6	-46.54	-16.07	×	249.72	329.52	×	×	1.07	0.88
4	C社	239.8	1.54	389	0.8732	4.573	0.990	284.5	-44.69	-15.71	×	243.57	325.37	×	×	1.16	0.88
5	D社	198.9	0.70	389	0.8882	11.885	1.028	302.5	-103.58	-34.25	×	263.10	341.83	×	×	0.88	0.80
6	E社	240.6	0.96	389	0.9015	12.858	1.053	310.5	-69.93	-22.52	×	273.11	347.95	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表５　反応性評価結果

試料名	ﾘﾊﾟｰｾﾞ標準液ﾜｺｰ(Lot.DN408)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	359.1	1.64	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	131.4	0.78	389	0.8715	2.908	0.536	195.5	-64.14	-32.81	×	171.74	219.27	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	231.2	1.08	389	0.9017	13.244	1.050	390.3	-159.12	-40.77	×	350.63	429.94	×	×	0.98	0.84
3	B社	256.0	1.90	389	0.8823	3.959	1.011	366.8	-110.87	-30.22	×	324.40	409.30	×	×	1.07	0.88
4	C社	252.3	1.64	389	0.8732	4.573	0.990	360.1	-107.84	-29.94	×	316.62	403.66	×	×	1.16	0.88
5	D社	231.9	1.18	389	0.8882	11.885	1.028	381.0	-149.08	-39.13	×	339.14	422.91	×	×	0.88	0.80
6	E社	274.1	1.94	389	0.9015	12.858	1.053	391.0	-116.95	-29.91	×	351.20	430.82	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表６　反応性評価結果

試料名	ﾘﾊﾟｰｾﾞ標準液ｶｲﾉｽ(Lot.635)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	370.3	1.57	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	136.3	0.71	389	0.8715	2.908	0.536	201.5	-65.20	-32.36	×	177.49	225.50	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	241.2	0.57	389	0.9017	13.244	1.050	402.0	-160.82	-40.00	×	361.97	442.08	×	×	0.98	0.84
3	B社	265.7	1.36	389	0.8823	3.959	1.011	378.1	-112.45	-29.74	×	335.26	421.03	×	×	1.07	0.88
4	C社	263.0	1.24	389	0.8732	4.573	0.990	371.2	-108.19	-29.15	×	327.25	415.17	×	×	1.16	0.88
5	D社	240.8	1.19	389	0.8882	11.885	1.028	392.5	-151.72	-38.65	×	350.20	434.83	×	×	0.88	0.80
6	E社	284.0	2.22	389	0.9015	12.858	1.053	402.8	-118.78	-29.49	×	362.57	443.00	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

表７　反応性評価結果

試料名	ﾃﾞﾀﾐﾅｰ標準酵素Lﾘﾊﾟｰｾﾞ用(Lot.116AFB)

	キット名	n=	5	回帰式 y=a+bx				推定値	残差	相対残差		９５%信頼区間			総合	精密さ	
		平均値	ＳＤ	n	r	a	b			%	評価	下限値	上限値	評価	評価	Sy・x	σ^
	自製JSCC-SOP試薬	285.1	10.33	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	※	2.42	1.76
1	A-1社	130.3	0.61	389	0.8715	2.908	0.536	155.8	-25.48	-16.35	×	133.43	178.18	×	×	0.53	0.40
2	A-2社	210.0	1.61	389	0.9017	13.244	1.050	312.6	-102.52	-32.80	×	275.23	349.89	×	×	0.98	0.84
3	B社	250.6	1.48	389	0.8823	3.959	1.011	292.0	-41.42	-14.18	×	252.07	332.01	×	×	1.07	0.88
4	C社	249.0	2.38	389	0.8732	4.573	0.990	286.8	-37.81	-13.18	×	245.87	327.82	○	×	1.16	0.88
5	D社	205.8	0.86	389	0.8882	11.885	1.028	304.9	-99.17	-32.52	×	265.49	344.37	×	×	0.88	0.80
6	E社	243.9	1.34	389	0.9015	12.858	1.053	313.1	-69.18	-22.10	×	275.58	350.54	×	×	1.25	0.97

相対残差：○:±5%以内,△:±10%以内,×:±11%以上
評価：○:±5%以内,×:±6%以上

４－１－４．考察

JSCC 常用基準法（案）と市販の日常検査用試薬キットを用いて、酵素標準物質（JC-ERM：Lot5)、各社の検量用物質の反応性評価と JSCC 常用基準法（案）による基準範囲の算出を行った結果、以下の事項が確認でした。

まず、多数の患者検体を用いて、JSCC 常用基準法（案）と市販の日常検査用試薬キットによるリパーゼ活性値を比較した結果、測定キットによっては乖離検体が認められた。乖離検体が生じる大きな要因は、試薬キット毎に血清中の膵リパーゼ以外、例えば肝リパーゼやリポ蛋白リパーゼなどとの反応性が異なることが推定される。従って、今後は試薬キット毎に反応性の特異試験を行い、乖離検体が生じる原因を確認する必要がある。

また、JC-ERM、各社の検量用物質の反応性試験を行った結果、いずれの試薬キットにおいても相対残差の±5%以内を満たすことはできなかった。また個々の Y の 95%信頼区間での評価結果でも、いずれの測定キットにおいても許容範囲を越えた結果であった。これらのことから、JSCC 常用基準法（案）は JC-ERM、各社の検量用物質とヒト血清との反応性とは異なることが確認できた。

この現象は市販のリパーゼ測定試薬には起こっておらず､今回開発した JSCC 常用基準法（案）のみに見られる現象であることより JSCC 常用基準法（案）の反応性の改善をする必要がある。

４－２．JSCC 常用基準法（案）のリパーゼ特異性試験

４－２－1. 目的：ヒトにヘパリンを静脈投与すると肝リパーゼやリポプロテインリパーゼが血清中に遊離されることが知られている。今回開発した JSCC 常用基準法（案）や市販試薬キットが膵由来リパーゼに特異的であるかどうかを確認するためにヘパリン投与前後血清を用いて各測定法のリパーゼ特異性を確認することを目的とする。

４－２－２．実施内容

1）測定装置

日立 7180、モジュラーアナリティクスを用いた。なお測定ダイアグラムは、(1) JSCC 常用基準法（案）は、規定された測定方法に従い、検量は実測Ｋファクターを算出して実施した。(2) 検討法：試薬メーカーの標準操作法に従い、検量は各社指定の検量物質をそれぞれ用いて実施した。

2) 検討試料：

健常人 8 名を対象に、早朝空腹時にヘパリン 30IU/Kg を静脈内投与し、ヘパリン投与前および投与 15 分後に採血した検体をそれぞれ用いた。

3）検討試薬：

(1) JSCC 常用基準法（案）を用いた。なお本法の試薬調製は、JSCC 常用基準法(案)による標準操作法案（JSCC-SOP 案）に従って、自製した。

(2) 検討用試薬：以下に示した 5 社の 6 試薬キットを用い、試薬調製は、各試薬メーカー

の指示どおりに行った。
①ネスコートVNリパーゼ(AL-1:アルフレッサファーマ社製)、②ネスコートVLⅡLIP(AL-2:アルフレッサファーマ社製)、③リパーゼカラーオートテストワコー（WA:和光純薬社製)、④カイノスオートシリーズリパーゼ試薬（KN:カイノス社製)、⑤デタミナーLリパーゼⅡ（KY:協和メディクス社製)、⑥リキテックリパーゼ・カラー（RD:ロシュ・ダイアグノスティックス社製)

4）評価方法：

JSCC 常用基準法（案)、各社の試薬キットによるヘパリン投与前の活性値をもとに、ヘパリン投与後の活性値と比較した。

４－２－３．測定結果

ヘパリン投与前後で活性値の変動を調べた結果を図 14、15 に示した。その結果、相関係数（ｒ）が 1.00 に近似した測定キットは、RD，AL-2，KY の 3 キットであった。このうち、RD は回帰式のｙ切片が小さく、傾き（ｂ）は 1.00 に近似した値が得られ、ヘパリン投与前後で活性値の変動が少ないことが想定できた。また、AL-2，KY の 2 キットは RD に比べて、回帰式のｙ切片がやや大きく、傾き（ｂ）は約 1.7 となり、ヘパリン投与後の活性値がほぼ一定の比率で高い傾向を示した。その他の試薬キットは、ヘパリン投与前後で一定の傾向は認められなかった。

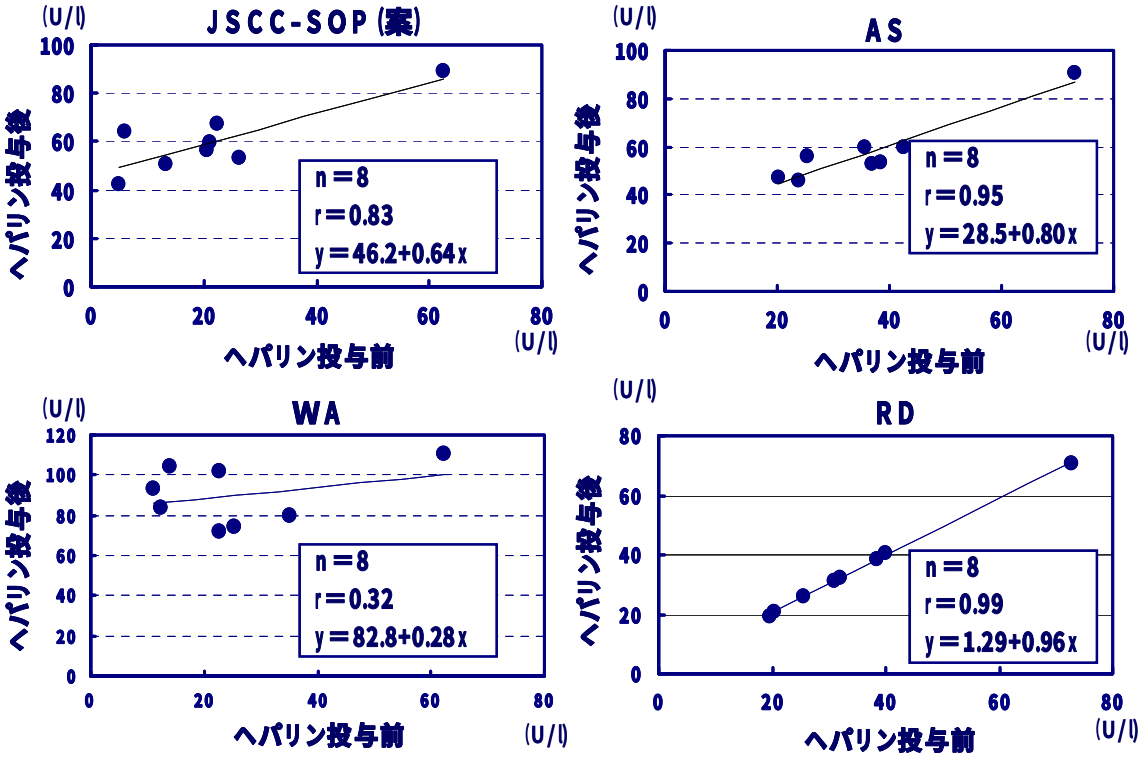


図14　ヘパリン投与前後における活性値の変動

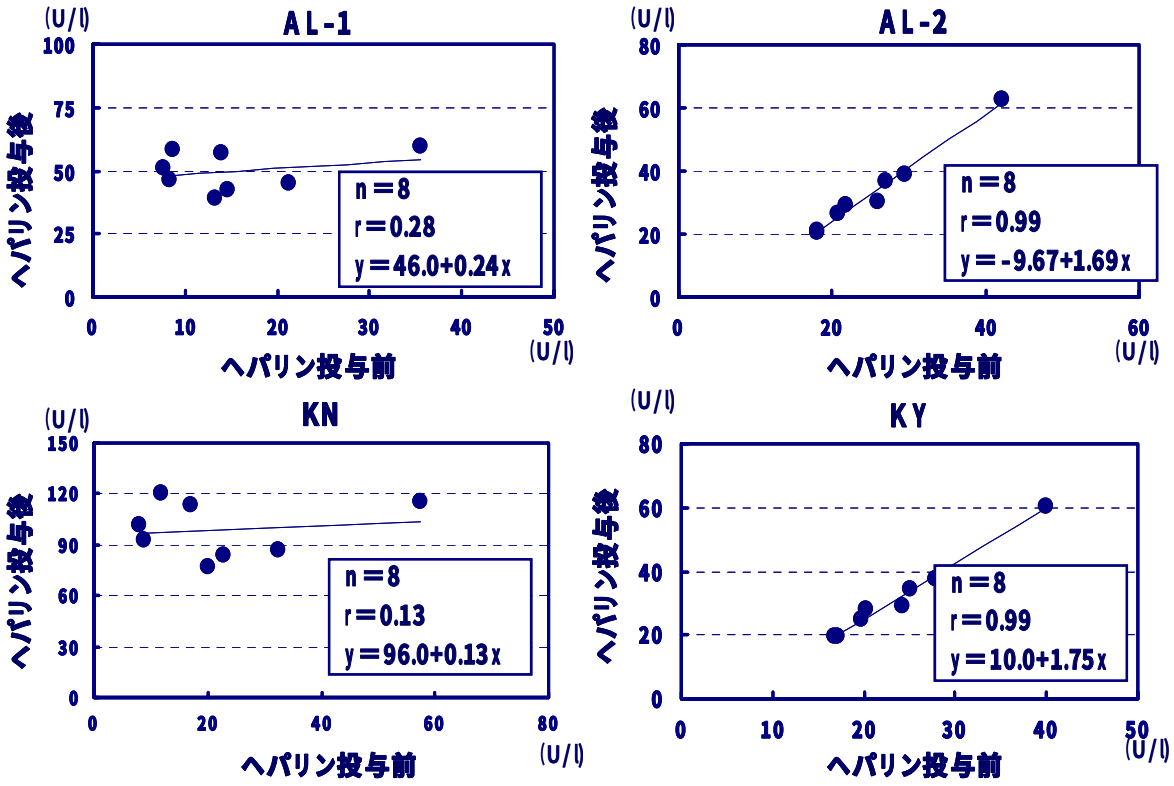


図15　ヘパリン投与前後における活性値の変動

４－２－４．考察

ヘパリンを静注すると、血中にリパーゼ活性が上昇することが知られている。これをヘパリン静注後脂質分解活性と呼ばれている。これは、末梢血管内皮細胞表面に存在するリポ蛋白リパーゼや肝性トリグリセリドリパーゼがヘパリン静注によって、血中に遊離するためであるとされている。

そこで、ヘパリン負荷試験を行い、JSCC 常用基準法（案）や各社の試薬キットが膵由来のリパーゼ以外のリパーゼと反応するか否かの特異性試験を行った。

その結果、RD はヘパリン投与前後でリパーゼの活性値に変動が認められず、膵由来のリパーゼに特異性が高い測定キットであることが確認できた。その他のキットは、膵由来のリパーゼ以外にリポ蛋白リパーゼや肝性トリグリセリドリパーゼとも反応することが推定された。

しかし、ヘパリン投与により、リポ蛋白リパーゼや肝性トリグリセリドリパーゼがどの程度血中に遊離してくるのかについては不明であり、今後さらに詳細を検討する必要がある。

４－３.基準範囲の設定

４－３－1.目的：健常者の血清中のリパーゼ活性を JSCC 常用基準法（案）を用いて測定してリパーゼの基準範囲を設定することを目的とする。

４－３－２．実施内容

1）検討装置：

日立 7600-20E 自動分析装置（日立ハイテクノロジーズ社製）を使用した。なお測定ダイアグラムは、JSCC 自動化法（案）に従い、検量は実測Ｋファクターを算出して実施した。

2）検討試薬：

JSCC 自動化法(案)用試薬を用いた。なお本法の試薬調製は、本プロジェクトによる JSCC 常用基準法(案)による標準操作法案に従って、自製した。

3）測定試料：

2006 年 10 月～12 月までに、健診受診者血清を試料とし、32 日間に渡って毎日測定した。延べ検体数は男性 2,019 例、女性 331 例、計 2,350 例であった。

4）除外基準の設定：

除外基準は、(1)BMI：18.5 未満、25.0 以上、(2)血圧：最高血圧 165mmHg 以上、最低血圧 95mmHg 以上、(3) 尿定性検査：蛋白、糖、潜血のそれぞれが陽性、(4) 便中ヘモグロビン：陽性、(5)空腹時血糖：110mg/dl 以上、(6) ヘモグロビン濃度：12.0mg/dl 以上、(7) TP:6.5g/dl 以下、(8)A/G 比:1.20 以下、2.20 以上、(9)BUN:25.0mg/dl 以上、(10)UA:7.0mg/dl 以上、(11) T-CHO：220mg/dl 以上、(12)TG:150mg/dl」以上、(13)LDL-C：140mg/dl 以上、(14) 感染症検査：HBs 抗原、HCV 抗体のそれぞれが陽性とした。

5）基準範囲の算出方法：

除外基準を適用後抽出した男性 338 例、女性：59 例、計 397 例を用いて、ノンパラメトリック法により基準範囲を算出した。

４－３－３．検討結果

検討の結果得られた除外前後における血清リパーゼ活性の度数分布を表 8、図 16～17 にそれぞれ示した。その結果、JSCC 常用基準法（案）による血清リパーゼ活性値の基準範囲は、全体では 7～41U/l，37℃（男性：6～41U/l，37℃、女性：3～39U/l，37℃）となった。

表 8　除外前後の血清リパーゼ活性値と度数

年代	男性（度数）		女性（度数）		合計（度数）	
	除外前	除外後	除外前	除外後	除外前	除外後
20歳代	5	2	2	0	7	2
30歳代	435	93	48	8	483	101
40歳代	727	123	86	23	813	146
50歳代	621	80	116	23	737	103
60歳代	170	30	75	5	245	35
70歳代	61	10	4	0	65	10
合計	2,019	338	331	59	2,350	397

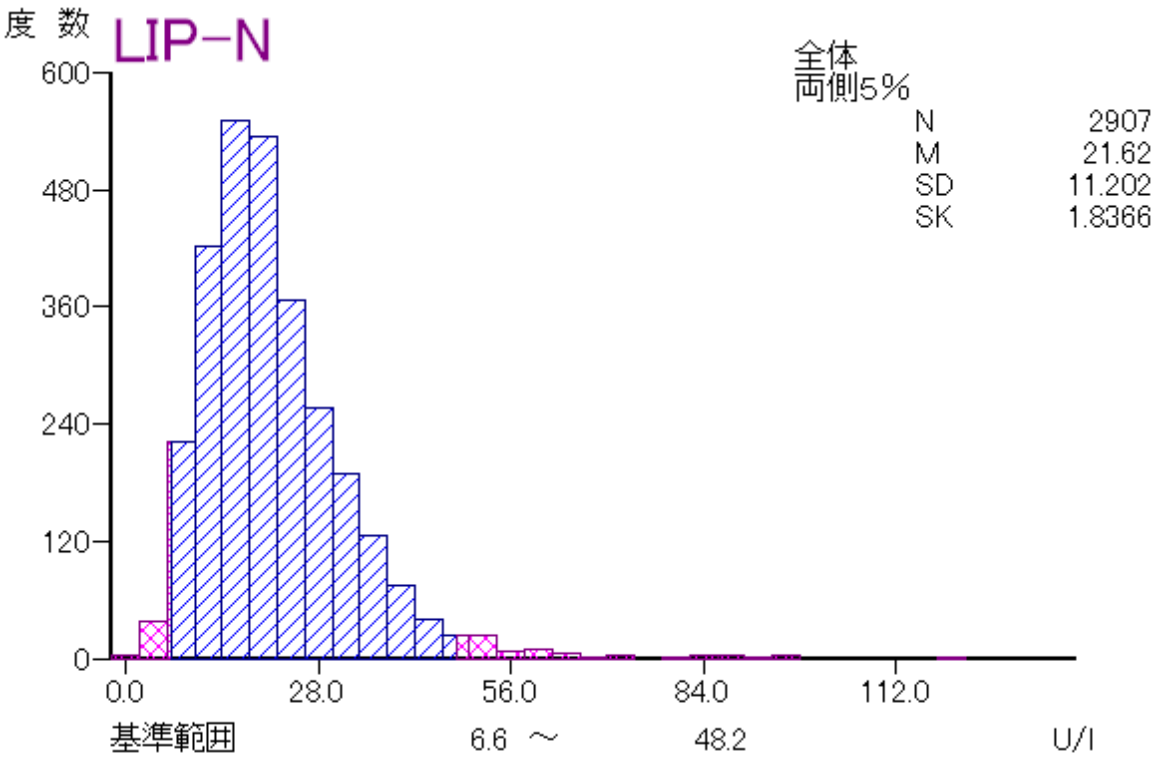


図16　血清リパーゼ活性値のヒストグラム (除外前)

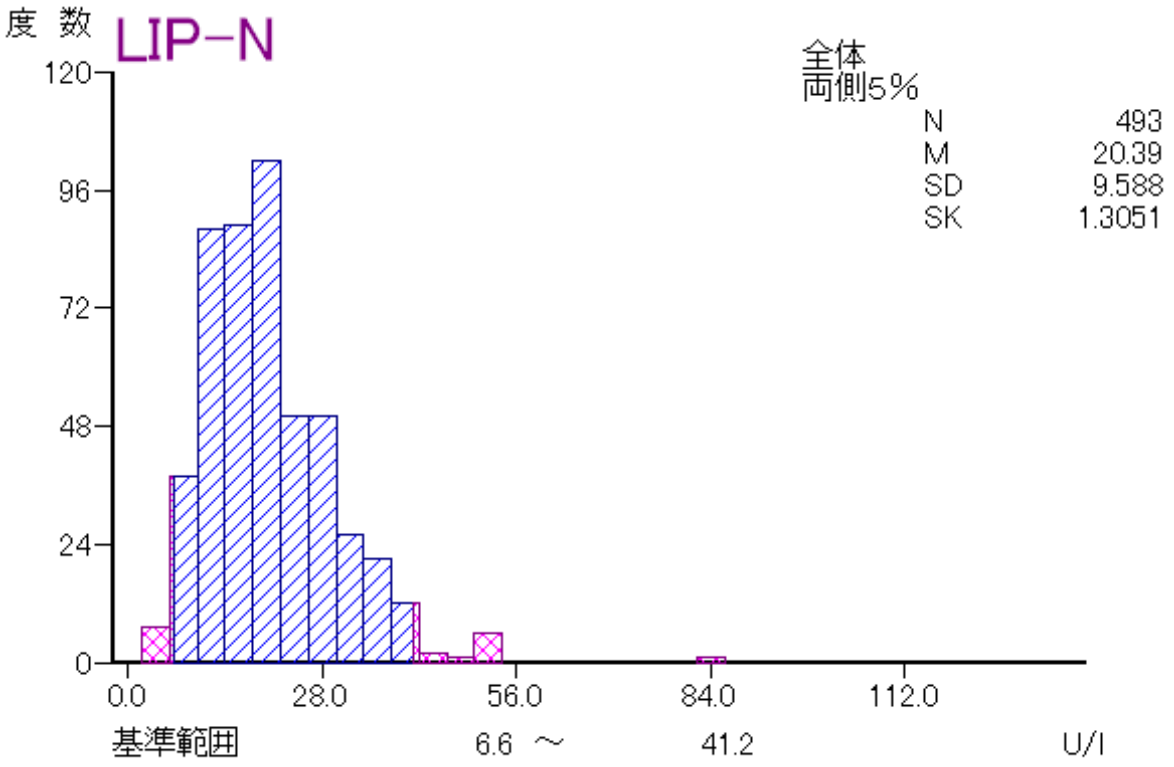


図17　血清リパーゼ活性値のヒストグラム (除外後)

４－４．考察

JSCC 常用基準法（案）による基準範囲を、多数の健診受信者の検体を用いて算出しできたことは、臨床的に有意義であったと考える。

5.実試料標準物質の作製プロトコル

5-1 トレーサビリティ連鎖

血清リパーゼ活性測定におけるトレーサビリティ連鎖は、以下のとおりである（図 18）。

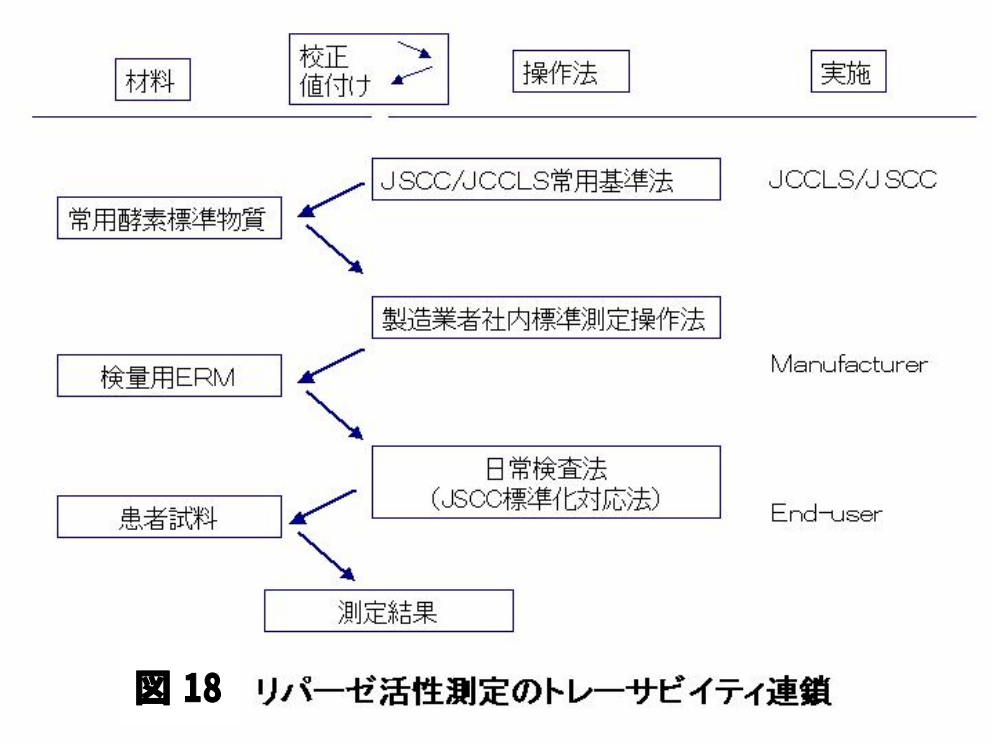


図 18　リパーゼ活性測定のトレーサビイティ連鎖

5-2 試料の性状規格

血清リパーゼ活性における標準物質の性状は、血清ベースのものを充当することが妥当であると考える。しかし、今回の検討においては、その性状を特定するまでには至らなかった。

5-3 値付けの方法

5-1 に示したトレーサビリティ連鎖に従って、標準物質の値付けを行う。

6.今後の課題

血清リパーゼ活性における標準物質の候補品として JC-ERM を想定し、ヒト血清との反応性試験を実施した結果、本 JSCC 常用基準測定法（案）においてのみ JC-ERM とヒト血清との反応性が異なることが確認できた。今後は、本常用基準測定法（案）を見直し、反応

性の改善を行う。もし、改善出来なかった場合は、新たに、血清ベースの安定した膵リパーゼ常用標準物質を設定することも検討する。

7.結び

本常用基準法（案）は血清リパーゼ活性測定の標準物質の候補品である JC-ERM とヒト血清中リパーゼとの反応性が異なることから、再度本常用基準法（案）の改善が早急の課題となった。

２－２－３－１９　尿中電解質成分

要旨

１）　尿中電解質成分について、「水溶液ベースの尿用標準物質候補品を調製・使用し、各社装置のデータ収束性の向上を評価、検証する」ことを目的とした研究を実施した。

２）　測定項目は日常検査で汎用されている項目：ナトリウム、カリウム、クロールとした。

３）　本年度は昨年度の検討結果を踏まえて、水溶液ベースの尿用標準物質候補品を作製し、それにより検量線補正することで収束性向上について検討した。方法は各社の測定のプロトコルに従い患者尿 25 例を測定した。

解析方法は各装置間の収束性を CV により検証した。また、反応性評価は、市販キャリブレーターにより校正した各社装置で尿用標準物質候補品を測定し、その測定値の CV として評価した。さらに、トレーサビリティ体系の上位測定法による測定値と各社装置による測定値との相関係数の傾きの CV から尿用標準物質候補品による収束性を評価した。

４）　その結果、試薬間測定値の互換性は得られており、収束性は確認できるが、尿用標準物質候補品を用いた補正を行うことで、さらにその収束性は向上した。

５）　平成 19 年度は標準物質候補品の安定性試験の継続評価が必要と思われる。

１．目的

本研究項目群、J4（尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清無機リン）内の尿中電解質成分について、「尿中電解質成分測定のための水溶液ベースの尿用標準物質候補品を調製・使用し、各社装置のデータ収束性の向上を評価、検証を行う」ことが本研究の目的である。

尚、今回の尿中電解質成分に該当する項目は Na、K、Cl とした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
責任者	小林　隆	栄研化学株式会社
運営管理者(臨薬協)	小林　隆	栄研化学株式会社
柱 1／C1 担当	中野　頼人	株式会社シノテスト
実行計画作成者	山崎 浩樹	株式会社テクノメディカ
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院　准教授
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学病院中央検査部技師長
技術担当者	津谷　泰樹	株式会社エイアンドティー
技術担当者	樋渡 亮二	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	渡邊 郁子	株式会社常光
技術担当者	斉藤 憲祐	デイド・ベーリング株式会社

	氏名	所属
技術担当者	山崎 浩樹	株式会社テクノメディカ
技術担当者	横田 敦子	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	吉海　毅	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	保田　　健二	株式会社日立ハイテクノロジーズ
技術担当者	田中　晶子	東芝メディカルシステムズ株式会社
技術担当者	辻　泰彦	日本電子株式会社

３．委員会の開催

① 第一回会合(通算第二回)：2006/4/12 （水）10:00～12:00 （臨薬協会議室）

② 第二回会合(通算第三回)：2006/5/16 (火)　15:00～16:30 （臨薬協会議室）

③ 第三回会合(通算第四回)：2007/3/12 （月）14:00～15:30 （栄研化学会議室）

４．調査研究の概要

４－１測定値の互換性の現状

昨年度の評価において、市販のキャリブレーターに基づく患者尿の収束性と標準血清に基づき較正した各社装置による患者尿の測定結果の収束性とに差異はなかった。また、昨年度試作した尿用標準物質候補品においても標準血清と同等の収束性を示した。それらの結果により各社装置による市販のキャリブレーターに基づく患者尿の収束性は一定水準に達していることがわかった。これは、既に血清用の標準物質が実用化されており、その物質を用いた測定値の標準化が行われていることが背景にあると考えられる。

４－２標準化および標準物質の設定経過

昨年度の評価において尿用標準物質候補品の設定にはいくつかの課題のあることが明確にされた。

① 各社装置の測定原理に基づく反応性の差

② 各社装置の測定方式に依存する反応性の差

③ 尿用標準物質候補品の設定濃度値

④ 尿用標準物質候補品のマトリックス

⑤ 評価用患者尿の濃度域

この中で尿用標準物質候補品の設定濃度値およびマトリックスは本検討の主題と捉えることができる。昨年度の尿用標準物質候補品の作製では設定濃度値として標準血清との比較を考慮して設定したが、設定濃度の不適切が明確になった。反応性は標準血清と尿用標準候補品とで差異がなかった。したがって、今年度の尿用標準物質候補品の作製に際しては、

① 患者尿の全濃度域内の適正な濃度を設定する

② マトリックスとして、pH 変化の小さい組成、分解して重炭酸や炭酸ガスあるいはアンモニアを発しない物質とする

を要点として次の組成を目標とした。

マトリックス：精製水ベース

各試薬成分：

	レベル 1	レベル 2	レベル 3
リン酸2水素ナトリウム	1.3mmol/L	4.0mmol/L	8.0 mmol/L
リン酸水素2ナトリウム	4.3mmol/L	13.0mmol/L	26.0 mmol/L
塩化ナトリウム	40.0mmol/L	70.0mmol/L	120.0 mmol/L
塩化カリウム	10.0mmol/L	30.0mmol/L	60.0 mmol/L
クレアチニン	83.0mg/d L	83.0mg/dL	83.0mg/dL
尿素	1000.0mg/dL	1000.0mg/dL	1000.0mg/dL

４－３値付けの方法の選択

電解質測定に関しては本研究に参加の全メーカにおいてイオン選択性電極法を測定原理とする測定法が採用されている。そして、臨床検査の分野では上位標準との測定値の互換性に関する traceability 体系は明確になっている。イオン選択性電極法の上位測定法にはフレーム光度法、電量滴定法が設定されているため、尿中電解質成分に関しても同様にフレーム光度法、電量滴定法を採用する。

項目	較正物質	測定方法
u-Na	SRM 919a (NaCl)	フレーム光度法
u-K	SRM 918a (KCl)	フレーム光度法
u-Cl	SRM 919a (NaCl)	電量滴定法

５．標準物質の設定概要

５－１実験計画書

実験は以下の予定で実施する。

① 濃度設定、試料数、マトリックに関する全体検討会
② 標準候補品作製依頼
③ 標準候補品配布
④ 補正効果評価実験提出
⑤ 補正効果評価実験解析
⑥ 安定性試験中間報告
⑦ 補正効果評価実験解析結果報告会(実行計画担当者)
⑧ 平成１８年度報告書事前検討
⑨ 安定性試験中間報告

⑩ 補正効果評価実験解析結果全体報告会および平成 19 年度計画検討

⑪ 平成 18 年度報告書提出

５－２共同実験

５－２－１測定試料

尿用標準物質候補品、電解質標準血清 JCCRM321(CA-6)、患者尿およびコントロール尿。

５－２－２測定方法

A. 使用試薬及び機器

各社にて選定した測定機器により尿の測定モード(尿用の希釈倍率、補正等)で測定を行う。

B. 各社測定機器での測定

各社キャリブレーター（溶媒ベース・血清ベース）を用いて較正し、尿用標準物質候補品、電解質標準血清 JCCRM321(CA-6)、患者尿およびコントロール尿を測定する。

標準候補品及び各社キャリブレーターは多重測定（３重測定が望ましい）を行った結果を補正データとする。

C. 患者尿試料の前処理

患者尿検体は室温に戻してから 3000rpm、10 分遠心した上清を使用する。

.結果集計

HECTEF SRC にて測定した患者尿試料のフレーム光度法および電量滴定法による測定値を比較対照法(X 軸)として、各社キャリブレーターで較正する系による測定結果および尿用標準候補品の測定結果に基づき検量線を算出し、補正した測定結果を評価する(Y 軸)。

測定データとともに以下の情報を添付したエクセルファイルに入力する。

測定値の入力単位は mmol/L または mEq/L とし、測定方法および校正方法は次の分類を記入する。

測定方法：希釈法、直接法、ドライケミストリー法、その他

校正方法：溶媒ベース水溶性の標準液、血清ベースの標準液、市販の管理血清、その他

５－２－３測定結果

尿用標準物質候補品による補正効果を確認するために、尿用標準物質候補品による収束性を評価した。比較対照として市販キャリブレーターによる収束性を評価した。収束性は各社装置による患者尿 25 例の測定値それぞれの変動係数(CV 値)を算出した。ここで、尿用標準物質候補品は 3 濃度構成であるために、3 濃度の標準値と測定値による検量線補正とともに、低濃度と高濃度および中濃度と高濃度の 2 濃度の標準値と測定値の検量線補正

による結果も合わせて評価した。また、反応性評価は、市販キャリブレーターにより較正した各社装置で各標準品を測定し、その測定値の変動係数として評価した。さらに、代表機器による測定値と各社装置による測定値との回帰式の傾きの変動係数から各標準候補品による全測定濃度範囲における相関の収束性を評価した。

なお、Na、K、Cl 測定はサンプルを専用の希釈液で希釈して測定する希釈測定法(間接測定法)、サンプルを希釈することなしに直接測定する直接測定法およびドライ試薬により測定するドライケミストリー法があり、希釈測定法は 8 社 9 機種、直接測定法は 2 社 2 機種、ドライケミストリー法は 1 社 1 機種が参加、調査を行った。昨年の評価では希釈測定法、直接測定法およびドライケミストリー法それぞれの反応性が異なるために必要に応じて測定法毎の集計を行い、比較したが、今年度の評価では特に区別することなく集計を行い、比較評価した。

① 尿中ナトリウム（Na）

10 社 12 機種での市販キャリブレーターによる収束性は CV2.28～10.04%(平均値 4.24%)に対して標準物質候補品 3 濃度補正による収束性は CV1.53～9.57%(平均値 3.26%) 、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV1.34～9.21%(平均値 2.85%)、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV1.62～11.46%(平均値 4.18%)であり、標準物質候補品による補正は市販キャリブレーターによる測定結果に比較して収束性が向上した（Table1—1)。

10 社 12 機種での反応性評価として、市販キャリブレーターに基づく各社装置による標準物質候補品の測定値の変動係数は、レベル 1(低濃度)が CV6.35%、レベル 2(中濃度)が CV2.97%、レベル 3(高濃度)が CV3.14%であり、昨年度の評価における各標準物資候補品による反応性と同等以上の収束性が得られた(Table1—2)。さらに、10 社 12 機種での代表機器による測定値と各社装置による測定値との相関係数の傾きの変動係数は、市販キャリブレーターが CV7.01%、に対して標準物質候補品 3 濃度補正が CV5.32%、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV4.92%、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV7.72%で、標準物質候補品は市販キャリブレーターに対して代表機器による測定値に対する収束性が向上した（Table1—3)。

② 尿中カリウム（K）

10 社 12 機種での市販キャリブレーターによる収束性は CV2.93～11.63%(平均値 4.33%)に対して標準物質候補品 3 濃度補正による収束性は CV2.22～10.72%(平均値 3.37%) 、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV2.85～11.74%(平均値 4.07%)、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV1.31～8.66%(平均値 2.72%)であり、標準物質候補品による補正は市販キャリブレーターによる測定結果に比較して収束性が向上した（Table1—1)。

10 社 12 機種での反応性評価として、市販キャリブレーターに基づく各社装置に

よる標準物質候補品の測定値の変動係数は、レベル 1(低濃度)が CV12.15%、レベル 2(中濃度)が CV3.52%、レベル 3(高濃度)が CV4.06%であり、昨年度の評価における各標準物資候補品による反応性と同等の収束性が得られた（Table1—2)。
さらに、10 社 12 機種での代表機器による測定値と各社装置による測定値との相関係数の傾きの変動係数は、市販キャリブレーターが CV6.36%、に対して標準物質候補品 3 濃度補正が CV3.22%、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV2.97%、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV5.29%で、標準物質候補品は市販キャリブレーターに対して代表機器による測定値に対する収束性が向上した（Table1—3)。

③ 尿中クロール（Cl)

10 社 12 機種での市販キャリブレーターによる収束性は CV4.03～11.17%(平均値 5.61%)に対して標準物質候補品 3 濃度補正による収束性は CV3.14～10.12%(平均値 4.62%) 、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV3.09～10.20%(平均値 4.54%)、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正による収束性は CV3.25～9.80%(平均値 4.82%)であり、標準物質候補品による補正は市販キャリブレーターによる測定結果に比較して収束性が向上した（Table1—1)。

10 社 12 機種での反応性評価として、市販キャリブレーターに基づく各社装置による標準物質候補品の測定値の変動係数は、レベル 1(低濃度)が CV5.53%、レベル 2(中濃度)が CV6.62%、レベル 3(高濃度)が CV5.07%であり、昨年度の評価における各標準物資候補品による反応性と同等の収束性が得られた（Table1—2)。
さらに、10 社 12 機種での代表機器による測定値と各社装置による測定値との相関係数の傾きの変動係数は、市販キャリブレーターが CV11.53%、に対して標準物質候補品 3 濃度補正が CV7.63%、標準物質候補品レベル 1(低濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV7.48%、標準物質候補品レベル 2(中濃度)、レベル 3(高濃度)の 2 濃度補正が CV8.83%で、標準物質候補品は市販キャリブレーターに対して代表機器による測定値に対する収束性が向上した（Table1—3)。

尿中電解質を測定するための尿用標準物質候補品により検量線補正した時の尿中電解質成分測定値に関して各社装置間の互換性データを取得した。その結果、各社装置毎に設定された市販のキャリブレーターに基づく患者尿の収束性に対して尿用標準物質候補品により検量線補正した患者尿の収束性が向上していた。したがって、今回試作した尿用標準物質候補品により検量線補正することによる各社装置の測定値は一定の水準で収束しており、臨床検査データの標準化に寄与できるものと判断する。

現状の収束性をさらに向上させる方策には次の点が考えられる。

① 標準物質候補品の設定濃度値

② 標準物質候補品のマトリックス

標準物質候補品の設定濃度値およびマトリックスは本検討の主題と捉えることができる。

尿標準物質候補品の作製に際して、患者尿の全濃度域内の適正な濃度の設定と pH 変化の小さい組成、分解して重炭酸や炭酸ガスあるいはアンモニアを発する物質が少ないことを検討しなければならない。

６．標準物質の作製プロトコル

６－１トレーサビリティ連鎖

SI 単位系を最上位に位置づける体系とした。

６－２試料の性状規格

今後設定する。

６－３値付けの方法

今後設定する。

７．今後の課題

平成 19 年度は、これまでの結果を基に尿用標準物質候補品の本格的な作業を行う。主な作業としては安定性評価であり、安定性評価を終えた後に作製作業を行う。

８．結び

平成 17 年度の研究において、尿中電解質成分（Na、K、Cl）の実試料標準物質候補品の作成を行い、かつシミュレーションによるプレ検証試験も行い、その有用性について確認した。平成 18 年度は尿用標準物質候補品を設定して、その有用性を明確にした。平成 19 年度は残る課題である安定性試験を実施して、実試料標準物質の作製作業を予定している。

９．謝辞

検討に必要な試料のご提供とご助言を戴いた昭和大学病院臨床検査部　高木康教授に深謝致します。

Table-1　収束性データ

ナトリウム (Na)　　C.V.%

	全メーカー間差		
	最小値	最大値	平均
市販ｷｬﾘﾌﾞﾚｰﾀｰ	2.28	10.04	4.24
3点補正	1.53	9.57	3.26
2点補正(低高)	1.34	9.21	2.85
2点補正(中高)	1.62	11.46	4.18

カリウム (K)

	全メーカー間差		
	最小値	最大値	平均
市販ｷｬﾘﾌﾞﾚｰﾀｰ	2.93	11.63	4.33
3点補正	2.22	10.72	3.37
2点補正(低高)	2.85	11.74	4.07
2点補正(中高)	1.31	8.66	2.72

クロール (Cl)

	全メーカー間差		
	最小値	最大値	平均
市販ｷｬﾘﾌﾞﾚｰﾀｰ	4.03	11.17	5.61
3点補正	3.14	10.12	4.62
2点補正(低高)	3.09	10.20	4.54
2点補正(中高)	3.25	9.80	4.82

Table-3 相関性(傾き)データ

ナトリウム(Na)

	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	最小値	最大値	平均	標準偏差	C.V.%
市販キャリブレータ	0.7940	1.0690	1.0051	1.0169	1.0000	0.9341	1.00867	1.0086	1.0045	0.9686	0.9973	0.9346	0.79	1.07	0.98	0.07	7.01
3点補正	0.8466	0.9889	1.0103	1.0775	1.0040	1.0073	0.99999	1.0122	1.0044	1.0027	0.9976	1.0337	0.85	1.08	1.00	0.05	5.32
2点補正(低高)	0.8608	0.9877	1.0103	1.0751	1.0036	1.0060	1.00071	1.0128	1.0037	1.0020	0.9973	1.0328	0.86	1.08	1.00	0.05	4.92
2点補正(中高)	0.7732	1.0018	1.0110	1.1062	1.0087	1.0208	0.99335	1.0069	1.0112	1.0107	1.0014	1.0427	0.77	1.11	1.00	0.08	7.72
平均値	0.8187	1.0119	1.0092	1.0689	1.0041	0.9921	1.0007	1.0101	1.0060	0.9960	0.9984	1.0109					

カリウム(K)

	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	最小値	最大値	平均	標準偏差	C.V.%
市販キャリブレータ	0.9137	1.1709	1.0408	1.0692	1.0000	1.0069	1.04749	1.0635	1.0459	0.9615	0.9893	0.9788	0.91	1.17	1.02	0.07	6.36
3点補正	0.9351	0.9916	1.0399	0.9874	1.0279	1.0311	1.03239	1.0593	1.0366	1.0247	1.0111	1.0332	0.94	1.06	1.02	0.03	3.22
2点補正(低高)	0.9458	0.9911	1.0400	0.9889	1.0267	1.0309	1.03269	1.0591	1.0362	1.0233	1.0095	1.0327	0.95	1.06	1.02	0.03	2.97
2点補正(中高)	0.8646	0.9979	1.0382	0.9718	1.0440	1.0332	1.02896	1.0615	1.0413	1.0449	1.0452	1.0389	0.86	1.06	1.02	0.05	5.29
平均値	0.9148	1.0379	1.0397	1.0044	1.0247	1.0255	1.0354	1.0609	1.0400	1.0136	1.0138	1.0209					

クロール(Cl)

	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	最小値	最大値	平均	標準偏差	C.V.%
市販キャリブレータ	0.6571	0.9100	0.9381		1.0000	0.7407	0.91223	0.8967	0.9284	0.9019	0.9923	0.9336	0.66	1.00	0.89	0.10	11.53
3点補正	0.8116	0.9001	0.9334		0.9355	0.7258	0.91878	0.8937	0.9362	0.8862	0.9681	0.8932	0.73	0.97	0.89	0.07	7.63
2点補正(低高)	0.8261	0.9061	0.9338		0.9393	0.7262	0.91883	0.8948	0.9356	0.8896	0.9700	0.8920	0.73	0.97	0.89	0.07	7.48
2点補正(中高)	0.7383	0.8588	0.9299		0.9062	0.7229	0.91661	0.8838	0.9417	0.8596	0.9526	0.9070	0.72	0.95	0.87	0.08	8.83
平均値	0.7583	0.8938	0.9338		0.9453	0.7289	0.9166	0.8922	0.9355	0.8843	0.9708	0.9064					

Table-2 反応性データ

ナトリウム (Na)

	規格	表示値	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	AVE	SD	CV
電解質人工尿標準候補	レベル1	50	61.1	53.5	51.1	54.3	51.7	55.9	49.6	50.5	50.0	52.9	49.3	51.2	52.6	3.34	6.35
電解質人工尿標準候補	レベル2	100	98.9	108.8	100.9	103.7	102.0	103.4	99.4	99.9	100.6	101.9	99.7	97.2	101.4	3.01	2.97
電解質人工尿標準候補	レベル3	180	181.0	194.2	180.4	177.2	181.3	176.6	180.6	180.0	180.1	178.6	179.3	168.9	179.8	5.64	3.14

カリウム (K)

	規格	表示値	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	AVE	SD	CV
電解質人工尿標準候補	レベル1	10	10.3	5.9	9.9	9.8	10.0	9.9	10.0	10.0	10.0	9.9	10.0	9.7	9.6	1.17	12.15
電解質人工尿標準候補	レベル2	30	26.9	29.8	29.8	30.9	29.9	29.5	30.1	30.2	30.3	29.3	30.7	28.9	29.7	1.05	3.52
電解質人工尿標準候補	レベル3	60	58.6	65.0	59.9	63.9	58.7	58.7	60.7	60.3	60.5	56.9	59.0	57.1	59.9	2.43	4.06

クロール (Cl)

	規格	表示値	G社	H社-1	H社-2	I社	J社	K社	A社	B社	C社	D社	E社	F社	AVE	SD	CV
電解質人工尿標準候補	レベル1	50	49.0	48.7	50.1		43.1	50.3	49.7	51.1	50.1	45.6	46.0	52.0	48.7	2.69	5.53
電解質人工尿標準候補	レベル2	100	81.2	94.5	100.0		93.2	100.9	99.3	100.2	100.2	93.5	95.7	105.8	96.8	6.41	6.62
電解質人工尿標準候補	レベル3	180	152.4	179.3	180.7		181.5	182.9	178.8	181.4	179.1	177.4	179.0	188.1	178.2	9.04	5.07

２－２－３－２０　尿中生化学成分

要旨

１）尿中生化学成分について、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための各項目の実試料系標準物質について検討した。
２）測定試薬を販売しているメーカーを中心にワーキンググループを設け、各項目の実試料系標準物質の性状規格、濃度設定を検討した。
３） 事前検討において決定した各項目の実試料標準物質候補品プロトタイプを作製し、各メーカー使用のキャリブレーター、コントロール及び検体も含めて各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。
４）測定値収束性の効果判定方法は各社の測定プロトコルに従い患者尿 25 例を測定した。その際、実試料標準物質候補品プロトタイプも検体として測定した。
解析方法は各キット間の収束性を CV により検証した。実試料標準物質候補品による測定値収束性の効果は標準候補品三濃度から求めた補正係数を各社キャリブレーターにて測定した測定値に乗じ確認した。
５）その結果、尿中アミラーゼ以外は標準候補品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。
６）今後の課題として尿中尿素窒素、尿中アミラーゼ以外は値付けの手順、認証値と不確かさ、貯法及び安定性の確認等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。
尿中尿素窒素については電極法を原理とする試薬では標準物質中に電解質が含まれていないと測定できない問題があり、標準物質のマトリックスの検討を再度行い、値付けの手順、認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。
尿中アミラーゼについては各標準品中のアイソザイムの存在比率と各試薬のアイソザイムに対する反応性を確認し、標準物質候補品の濃度設定及びマトリックスの検討を行い、値付けの手順、認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。

１．目的

本実試料項目群、J4（尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清無機リン）内の尿中生化学成分について、実試料系標準物質の作製を行い、市販試薬における測定値収束性を得ることが本調査研究の目的である。

尚、今回の尿中生化学項目成分に該当する項目はカルシウム・マグネシウム・尿酸・尿素窒素・グルコース・クレアチニン・アミラーゼ、無機リンとした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
責任者	小林 隆	栄研化学株式会社
運営管理者（臨薬協）	小林 隆	栄研化学株式会社
柱 1／J4 担当	中野 頼人	株式会社シノテスト
実行計画作成者	五来 隆	株式会社カイノス
技術アドバイザー	桑 克彦	筑波大学大学院　准教授
技術アドバイザー	森下 芳孝	三重大学病院中央検査部技師長
技術担当者	山下 章吾	アークレイマーケティング株式会社
技術担当者	小林 隆	栄研化学株式会社
技術担当者	樋渡 亮二	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	谷口 嘉之	オリエンタル酵母工業株式会社
技術担当者	五来 隆	株式会社カイノス
技術担当者	大和 隆	協和メデックス株式会社
技術担当者	吉田 敏之	シスメックス株式会社
技術担当者	田中 龍彦	株式会社シノテスト
技術担当者	根占 哲也	株式会社セロテック
技術担当者	斉藤 憲祐	デイド・ベーリング株式会社
技術担当者	瓶子 隆	デンカ生研株式会社
技術担当者	須釜 祐司	日東紡績株式会社
技術担当者	杉原 充	富士フイルム株式会社
技術担当者	横田 敦子	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	竹森 圭二	（株）ミズホメディー
技術担当者	秋元 一隆	株式会社三菱化学ヤトロン
技術担当者	吉海 毅	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	花田 寿郎	和光純薬工業株式会社
技術担当者	細井 健二	第一化学薬品株式会社
技術担当者	瀬川 充	関東化学株式会社
技術担当者	水口 克彦	東洋紡績株式会社
技術担当者	久米 俊久	極東製薬工業株式会社

３．委員会の開催

④ 第一回会合(通算第二回)：2006/4/12　（水） 10:00～12:00　（臨薬協会議室）

⑤ 第二回会合(通算第三回)：2006/5/16　(火)　15:00～16:30　（臨薬協会議室）

⑥ 第三回会合(通算第四回)：2007/3/12　（月） 14:00～15:30　（栄研化学会議室）

4．標準物質の設定概要

4－1　実験計画書

（1）事前検討

二項目ずつ小グループに分け、各項目の標準物質候補品の濃度設定及びマトリックスを決定するため事前検討を行った。

項目	会社名	技術担当者
Mg Ca	株式会社セロテック	根占 哲也
	ベックマン・コールター株式会社	横田 敦子
	株式会社三菱化学ヤトロン	秋元 一隆
	和光純薬工業株式会社	花田 寿郎
	東洋紡績株式会社	水口 克彦
UN UA	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス	樋渡 亮二
	株式会社カイノス	五来 隆
	日東紡績株式会社	須釜 祐司
	富士写真フイルム株式会社	牧内 肇
	栄研化学株式会社	小林 隆
GLU CRE	株式会社シノテスト	田中 龍彦
	デイド ベーリング株式会社	斉藤 憲祐
	デンカ生研株式会社	瓶子 隆
	（株）ミズホメディー	竹森 圭二
	極東製薬工業株式会社	久米 俊久
AMY	オリエンタル酵母工業株式会社	谷口 嘉之
	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	吉海 毅
	第一化学薬品株式会社	細井 健二
	東洋紡績株式会社	水口 克彦
IP sIP	アークレイマーケティング株式会社	山下 章吾
	協和メデックス株式会社	大和 隆
	シスメックス株式会社	吉田 敏之
	関東化学株式会社	木下 茂信

（2）本検討

別紙に各企業に送付した、測定プロトコル（送付試料・測定方法／測定結果／注意事項、及び各標準物質候補品の濃度）を示した。

4－2　共同実験

4－2－1　測定試料

（1）市販キャリブレーター

（2）HECTEF SRC 製造の血清標準物質

CA-6（Ca、Mg）

GN3-6（UA、UN、CRE、Glu）

（3）JCCLS 認証の JCERM

JCERM005（AMY）

（4）市販コントロール

Liuichek Level 1、Level 2（Ca、Mg、UA、UN、CRE、Glu）

（5）HECTEF SRC 製造の実試料標準物質（3 濃度）プロトタイプ

項目	濃度－1	濃度－2	濃度－3
尿中 Ca	5 mg/dL	10 mg/dL	15 mg/dL
尿中 Mg	5 mg/dL	10 mg/dL	15 mg/dL
尿中 UN	5 mg/dL	10 mg/dL	16 mg/dL
尿中 UA	50 mg/dL	90 mg/dL	120 mg/dL
尿中 Glu	100 mg/dL	200 mg/dL	500 mg/dL
尿中 Cre	10 mg/dL	50 mg/dL	100 mg/dL
尿中 IP	5.3 mg/dL	10.6 mg/dL	21.2 mg/dL
血清 IP	3.8 mg/dL	6.8 mg/dL	9.8 mg/dL

（6）旭化成ファーマ製造の実試料標準物質

項目	濃度－1	濃度－2	濃度－3
尿中 Amylase	100 U/L	300U/L	600U/L

（7）患者検体

昭和大か供与された各項目 25 例の患者尿を用いた。

4－2－2　測定方法

方法は各社尿測定のプロトコルに従い患者尿 25 例を測定した。その際、2）～6）も検体として測定した。実試料標準物質の収束性効果を確認するため、実試料標準候補品 3 濃度の傾きを補正値とし、7）に乗じ市販キャリブレーターと収束性を比較した。

４－２－３　測定結果

（１）事前検討

事前検討結果から各項目の標準物質候補品のマトリックス及び濃度設定を以下のように決めた。

	Ca	Mg
濃度-1	5 mg/dL	2 mg/dL
濃度-2	10 mg/dL	4 mg/dL
濃度-3	15 mg/dL	6 mg/dL
原料	$(CH_3COO)_2Ca \cdot H_2O$	$(CH_3COO)_2Mg \cdot 4H_2O$
備考	1. 100 mM NaCl 2. pH5.0 に調整 3. 0.2μm メンブランフィルター濾過	1. 100 mM NaCl 2. pH5.0 に調整 3. 0.2μm メンブランフィルター濾過
マトリックス	精製水	精製水
有効期間／保存	一年間／冷凍	一年間／冷凍
値付け	原子吸光光度法	原子吸光光度法

	UA	UN
濃度-1	5 mg/dL	50 mg/dL
濃度-2	10 mg/dL	90 mg/dL
濃度-3	16 mg/dL	120 mg/dL
原料	NIST SRM913a	NIST SRM912a
備考	1. 0.1N NaOH で尿酸 100 mg を溶解し、100 mL にメスアップ（液③-１）。 2. 液③-１を設定濃度になるように 50　mM ほう酸 pH8.0 + 1　mM EDTA で目標濃度になるように希釈。	精製水で設定濃度になるように調整。
マトリックス	ほう酸緩衝液	精製水
有効期間／保存	一年間／冷凍	一年間／冷凍
値付け	JSCC 勧告法 （除蛋白・HPLC 法）	AACC 推奨法 （除蛋白・酵素法）

	Glu	Cre
濃度-1	100 mg/dL	10 mg/dL
濃度-2	200 mg/dL	50 mg/dL
濃度-3	500 mg/dL	100 mg/dL
原料	NIST SRM917b	NIST SRM914a
備考		
マトリックス		
有効期間／保存	一年間／冷凍	一年間／冷凍
値付け	JSCC 勧告法 （除蛋白・HPLC 法）	JSCC 勧告法 （除蛋白・HPLC 法）

	uIP	IP
濃度-1	6 mg/dL	2 mg/dL
濃度-2	12 mg/dL	5 mg/dL
濃度-3	24 mg/dL	10 mg/dL
原料	NaH_2PO_4	NaH_2PO_4
備考		事前に、イオンクロマトグラフィ法にて、人血清中の無機リン濃度を測定し、上記の試薬添加量から減量して、添加する。
マトリックス	精製水	ヒト血清（HECTEF SRC 含窒素標準物質等の規格
有効期間／保存	一年間／冷凍	一年間／冷凍
値付け	イオンクロマトグラフィ法	イオンクロマトグラフィ法

（2）本実験

- 尿中カルシウム（Ca）20 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 5.6%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 7.8%、3 点補正で 6.9%、2 点補正で 8.1%であり、各試薬標準液と標準候補品による収束性は同等の結果であった。
- 尿中マグネシウム（Mg）

  17 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 6.5%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 9.7%、3 点補正で 8.3%、2 点補正で 9.8%であった。

  酵素法を原理とする 10 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 5.0%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.6%、3 点補正で 5.2%、2 点補正で 4.8%であった。

  化学法を原理とする 7 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 7.0%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 11.7%、3 点補正で 7.3%、2 点補正で 6.7%であった。

  酵素法のみの場合は各試薬標準液と標準候補品との収束性は同等であったが、化学法では収束性は悪くなり、測定原理により収束性に違いが見られた。
- 尿中尿酸（UA）

  22 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 6.8%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.7%、3 点補正で 6.1%、2 点補正で 8.6%であり、各試薬標準液と標準候補品による収束性は同等の結果であった。
- 尿中尿素窒素（UN）

  29 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 4.8%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.5%、3 点補正で 4.7%、2 点補正で 8.7%であった。

  酵素法を原理とする 26 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 5.1%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.8%、3 点補正で 4.7%、2 点補正で 6.7%であり、2 点補正での収束性が良くなった。

  3 点補正まで全ての試薬で各試薬標準液による収束性と標準候補品による収束性は同等であった。
- 尿中グルコース（GLU）

  22 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 5.5%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.8%、3 点補正で 7.7%、2 点補正で 14.9%であった。

  酵素法を原理とする 19 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 5.1%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.2%、3 点補正で 5.6%、2 点補正で 5.5%であり、酵素法のみの場合、収束性が良くなった。

  4 点補正までは各試薬標準液と同等の収束性を得られた。

・ 尿中クレアチニン（CRE）

19 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 3.9%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 2.9%、3 点補正で 2.8%、2 点補正で 9.9%であった。

酵素法を原理とする 16 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 3.2%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 2.6%、3 点補正で 2.7%、2 点補正で 4.0%であり、全試薬の場合は 3 点補正まで、酵素法のみの場合、2 点補正まで各試薬標準液での収束性と同等の収束性を示した。

・ 尿中無機リン（IP）

19 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 4.0%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 6.7%、3 点補正で 4.0%、2 点補正で 7.8%であった。

酵素法を原理とする 15 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 4.0%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 5.7%、3 点補正で 4.0%、2 点補正で 6.4%であり、3、2 点補正での収束性が良くなった。

4 点補正では全ての試薬で各試薬標準液による収束性と標準候補品による収束性は同等であった。

・ 尿中アミラーゼ（AMY）

24 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 36.1%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 34.2%、3 点補正で 34.0%、2 点補正で 34.4%であった。

基質の種類毎に標準候補品 1～3、JCERM、Liquicheck の反応性を確認した結果、それぞれの収束性は G3 を基質とする試薬以外は低下する結果となった。しかし、検体の平均収束性を確認した結果いずれも収束性も全ての試薬の場合と同等の収束性を示した。

アミラーゼについては各標準液中のＳ型、Ｐ型のアイソエンザイムの鋼材比率が異なり、また、各試薬の各アイソエンザイムに対する反応性が異なるために検体の収束性が低くならないものと考えられる。

５．実試料標準物質の作製プロトコル

５－１トレーサビリティ連鎖

AMY 以外は SI 単位系を最上位に位置づける体系とした。

５－２試料の性状規格

今後設定する。

５－３値付けの方法

今後設定する。

６．今後の課題

平成 19 年度は、これまでの結果を基に標準物質の作製プロトコルを確立するとともに保存安定性を確認する予定である。

UN に関しては標準物質のマトリックスを再検討し、実試料標準物質候補品作製のための本格的な作業を行う。

AMY に関してはアイソザイムの反応性を考慮した標準物質作製のため、各試薬のアイソエンザイムの反応性を再検証し、実試料標準物質候補品作製のための本格的な作業を行う。

７．結び

平成 18 年度の研究において、尿中生化学項目（Ca、Mg、UA、UN、CRE、Glu、IP、AMY）の実試料標準物質候補品のマトリックス、設定濃度、設定本数を定め、その有用性について確認した。平成 19 年度は残る課題を解決して、実試料標準物質を完成させる予定である。

８．謝辞

検討に必要な試料のご提供とご助言を戴いた昭和大学病院臨床検査部　高木康教授に深謝致します。

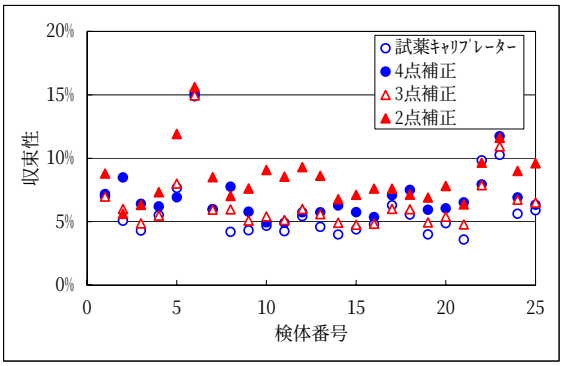
Ⅰ－1　反応性（尿中カルシウム）

		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	CA-6 M	CA-6 H	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	5.0	10.0	15.0	9.56	11.63		
B社	o-CPC法	0.0	5.3	10.3	13.9	9.32	11.08	7.28	10.36
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	5.8	10.6	15.5	9.52	11.63	7.27	10.50
E社	o-CPC法	0.0	5.1	10.6	15.7	9.60	11.73	7.30	10.77
	ｱﾙｾﾅｰｾﾞIII法	0.0	5.0	10.3	15.9	9.57	11.77	7.23	10.87
G社	o-CPC法	0.0	4.7	10.5	16.8	9.37	11.93	7.30	11.53
H社	PLD酵素法	0.0	4.9	10.3	15.8	9.60	11.80	7.00	10.27
	o-CPC法	0.0	4.8	10.3	16.7	9.47	11.77	7.13	11.10
I社	o-CPCｷﾚｰﾄ法	0.0	4.9	10.3	15.8	9.50	11.63	7.20	10.80
	ｱﾙｾﾅｰｾﾞIII法	0.0	5.0	10.2	15.1	9.57	11.63	7.27	10.50
J社	OCPC法	0.7	5.2	10.2	15.5	9.03	11.38	7.53	11.03
K社	OCPC法	-0.1	5.0	10.7	16.6	9.50	11.83	7.23	10.83
L社	OCPC法	0.0	5.0	10.6	16.5	9.37	11.70	7.09	10.75
M社	ｸﾛﾛﾌｫｽﾌｫﾅｰｾﾞIII法	0.4	5.4	10.9	16.2	8.53	10.40	8.15	11.29
N社	ｲｵﾝ電極法	0.0	5.2	10.3	15.2	9.15	11.15	7.47	10.46
P社	ｸﾚｿﾞｰﾙﾌﾀﾚｲﾝｺﾝﾌﾟﾚｸｿﾝ(o-CPC)法	0.1	4.9	10.3	15.9	9.33	11.65	7.12	10.62
Q社	OCPC法	0.0	4.8	10.0	15.5	9.46	11.88	7.57	11.91
R社	MXB法	0.0	5.4	10.4	15.6	9.33	11.27	7.70	10.80
S社	OCPC法	0.1	5.1	9.9	15.0	9.37	11.57	7.70	11.30
T社	o-CPC法	-0.1	4.4	9.5	14.6	8.75	11.44	7.33	10.70
U社	酵素法	0.0	5.3	10.4	15.5	9.71	11.76	7.29	10.59
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.1	5.1	10.3	15.7	9.35	11.57	7.36	10.85
	Min	-0.1	4.4	9.5	13.9	8.53	10.40	7.00	10.27
	Max	0.7	5.8	10.9	16.8	9.71	11.93	8.15	11.91
	STD	0.18	0.30	0.31	0.70	0.300	0.351	0.267	0.412
	C.V.%	-	6.0%	3.0%	4.5%	3.2%	3.0%	3.6%	3.8%

Ⅱ－1　収束性（尿中カルシウム；25検体平均収束性）

項目	分類	試薬標準液	標準候補品		
			4点補正	3点補正	2点補正
Ca	総合	5.9%	7.0%	6.4%	8.5%

	4点補正		
	平均補正値	平均切片	平均ｒ
総合	1.0423	-0.0390	0.9992



Ⅰ－2　反応性（尿中マグネシウム）

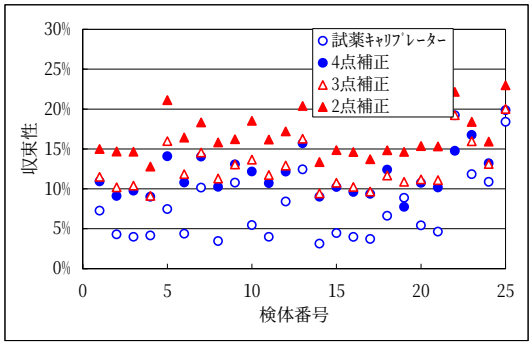
		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	JCCRM321-3 M	JCCRM321-3 H	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	5.0	10.0	15.0	2.02	3.83		
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	7.6	13.2	18.3	2.03	3.75	5.80	13.83
D社	酵素(ICDH)法	0.0	4.9	9.9	14.6	1.83	3.60	4.93	12.27
E社	ICDH法	0.0	4.9	9.9	14.6	1.93	3.77	5.17	12.73
F社	酵素法	0.0	5.0	9.7	14.3	2.03	3.80	5.23	13.00
G社	酵素法	0.0	5.2	10.7	16.3	2.00	3.93	5.43	13.67
H社	ｷｼﾘｼﾞﾙﾌﾞﾙｰ比色法	0.0	5.0	10.6	15.8	2.13	4.03	5.33	13.13
I社	ICDH･UV法	0.0	5.0	10.0	14.9	2.00	3.80	5.20	12.70
J社	MTB錯体測定法	-0.1	5.3	10.3	15.4	1.96	3.75	5.36	12.99
K社	酵素法	-0.1	5.1	10.0	14.9	1.90	3.60	5.23	13.17
L社	酵素法	0.0	5.0	10.2	15.3	1.92	3.71	5.40	13.50
N社	ｶﾙﾏｶﾞｲﾄ法	0.0	5.0	10.1	15.2	2.11	3.94	5.17	12.82
P社	酵素法	0.0	5.1	10.0	14.8	2.08	3.83	5.34	15.15
Q社	ｸﾛﾛﾎｽﾎﾅｿﾞIII法	-0.1	4.6	9.6	14.3	2.30	4.30	5.10	12.50
R社	酵素法	0.0	5.1	10.1	15.2	1.93	3.70	5.30	13.43
S社	ｷｼﾘｼﾞﾙﾌﾞﾙｰ法	0.0	5.0	10.0	14.9	2.10	3.90	5.40	11.00
T社	ｷｼﾘｼﾞﾙﾌﾞﾙｰ法	0.0	5.1	9.7	12.1	2.05	3.88	5.19	11.40
U社	酵素法	0.0	5.0	9.9	14.5	2.02	3.83	5.34	12.93
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.2	10.2	15.0	2.02	3.83	5.29	12.95
	Min	-0.1	4.6	9.6	12.1	1.83	3.60	4.93	11.00
	Max	0.0	7.6	13.2	18.3	2.30	4.30	5.80	15.15
	STD	0.04	0.64	0.82	1.21	0.109	0.167	0.183	0.927
	C.V.%	-	12.3%	8.1%	8.1%	5.4%	4.4%	3.5%	7.2%
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.0	10.0	14.9	1.97	3.76	5.26	13.25
	Min	-0.1	4.9	9.7	14.3	1.83	3.60	4.93	12.27
	Max	0.0	5.2	10.7	16.3	2.08	3.93	5.43	15.15
	STD	0.03	0.10	0.26	0.55	0.073	0.105	0.144	0.788
	C.V.%	-	2.1%	2.6%	3.7%	3.7%	2.8%	2.7%	5.9%
化学法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.0	10.1	14.6	2.11	3.97	5.26	12.31
	Min	-0.1	4.6	9.6	12.1	1.96	3.75	5.10	11.00
	Max	0.0	5.3	10.6	15.8	2.30	4.30	5.40	13.13
	STD	0.06	0.21	0.38	1.35	0.112	0.188	0.120	0.893
	C.V.%	-	4.2%	3.8%	9.2%	5.3%	4.7%	2.3%	7.3%

Ⅱ－2　収束性（尿中マグネシウム；25検体平均収束性）

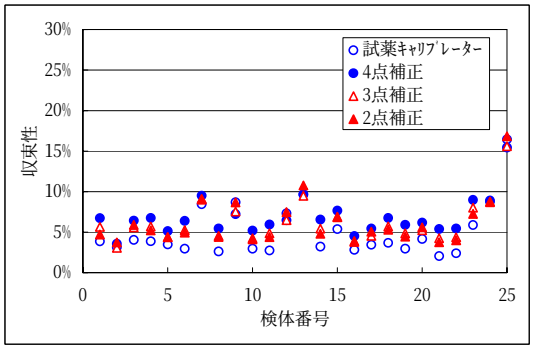
項目	分類	試薬標準液	標準候補品 4点補正	標準候補品 3点補正	標準候補品 2点補正
Mg	総合	7.5%	11.8%	12.6%	16.5%
	酵素法	5.0%	6.9%	6.1%	6.2%
	化学法	8.9%	13.2%	10.5%	11.8%

	4点補正 平均補正値	4点補正 平均切片	4点補正 平均ｒ
総合	1.0031	0.0755	0.9988
酵素法	0.9969	0.0210	0.9998
化学法	0.9791	0.0627	0.9978

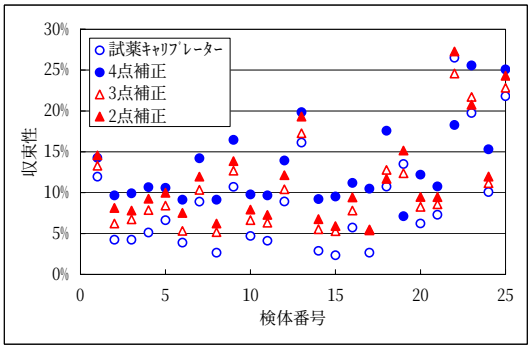
1）総合



2）酵素法



3）化学法



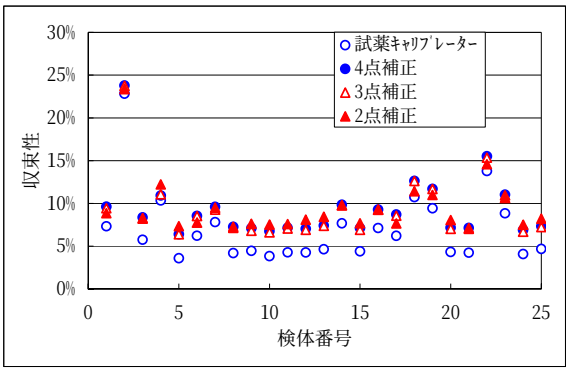
Ⅰ－3　反応性（尿中尿酸）

		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	GN3-6 M	GN3-6 H	GN3-6 HH	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	5.0	10.0	16.0	4.4	7.7	11.1		
B社	ｳﾘｶｰｾﾞPOD法	0.0	4.9	9.8	15.7	4.3	7.7	11.1	8.7	15.2
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	4.9	9.8	15.7	4.4	7.8	11.1	9.2	15.8
E社	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法	0.0	5.1	10.1	15.9	4.4	7.9	11.3	9.0	15.5
F社	ｳﾘｶｰｾﾞ・ﾍﾟﾙｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	-0.1	5.0	10.2	16.3	4.3	7.8	11.4	8.9	15.6
G社	Uricase-EHSPT法	0.0	5.0	10.2	16.4	4.5	8.0	11.5	8.9	15.6
H社	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法	0.0	4.9	9.9	15.7	4.4	7.7	11.3	8.8	15.3
	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法	0.0	4.8	9.8	15.7	4.4	7.8	11.3	8.7	15.2
I社	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD比色法	0.0	4.9	9.8	15.7	4.3	7.7	11.1	8.7	15.1
J社	ｳﾘｶｰｾﾞUV法	0.0	4.9	10.0	16.3	4.0	7.5	10.9	8.8	15.5
K社	酵素法	0.0	4.8	10.0	16.1	4.1	7.5	11.1	8.7	15.3
L社	酵素法	0.0	5.0	10.0	16.1	4.3	7.8	11.2	8.9	15.4
M社	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法	0.3	5.1	10.0	15.4	3.9	6.7	9.5	13.7	9.4
N社	ｳﾘｶｰｾﾞ・ﾊﾟｰｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.0	6.0	10.8	16.9	4.4	7.7	11.0	9.9	16.5
O社	ｳﾘｶｰｾﾞ・ﾍﾟﾙｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.0	4.8	9.9	15.9	4.3	7.8	11.2	8.8	15.3
P社	ｳﾘｶｰｾﾞ・ﾍﾟﾙｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.0	4.9	9.9	15.9	4.3	7.7	11.2	8.8	15.2
Q社	酵素法	0.0	5.4	9.2	15.2	3.5	6.5	9.9	7.9	14.3
R社	ｳﾘｶｰｾﾞ・HMMPS法	0.0	5.1	10.1	16.0	4.3	7.7	11.0	9.0	15.3
S社	酵素法（ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法）	0.0	5.1	10.0	16.1	4.3	7.7	11.1	9.0	15.7
T社	ｳﾘｶｰｾﾞ・POD法	0.0	5.0	10.0	16.1	4.3	7.9	11.4	8.9	15.6
U社	酵素法	0.0	5.0	10.0	15.9	4.5	7.9	11.3	8.8	15.3
V社	酵素法 ｳﾘｶｰｾﾞﾍﾟﾙｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.7	5.1	9.9	15.4	4.8	8.1	11.3	8.7	14.7
	酵素法	-0.3	4.9	10.3	16.4	4.4	8.1	11.8	9.5	16.2
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.0	10.0	15.9	4.3	7.7	11.1	9.1	15.1
	Min	-0.3	4.8	9.2	15.2	3.5	6.5	9.5	7.9	9.4
	Max	0.7	6.0	10.8	16.9	4.8	8.1	11.8	13.7	16.5
	STD	0.17	0.26	0.29	0.39	0.26	0.38	0.49	1.08	1.36
	C.V.%	-	5.1%	2.9%	2.4%	5.9%	5.0%	4.4%	11.9%	9.0%

Ⅱ－3　収束性（尿中尿素窒素；25検体平均収束性）

項目	分類	試薬標準液	標準候補品		
			4点補正	3点補正	2点補正
UA	総合	7.0%	9.4%	9.3%	9.5%
			4点補正		
			平均補正値	平均切片	平均ｒ
	総合		0.9984	0.0124	0.9997

1）総合



Ⅰ－4　反応性（尿中尿素窒素）

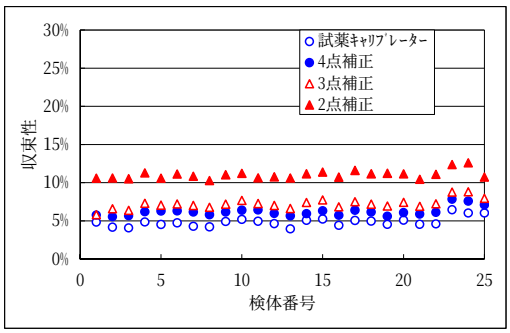
		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	GN3-6 M	GN3-6 H	GN3-6 HH	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	50.0	90.0	120.0	10.0	24.8	44.1		
B社	ｳﾚｱｰｾﾞGLDH(ICDH)法	0.0	50.8	91.3	121.6	10.4	25.2	44.6	419.2	731.5
		0.0	49.8	89.7	120.0	10.2	25.0	44.3	422.3	735.3
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	72.0	95.3	122.3	10.1	24.7	44.2	428.0	730.3
D社	酵素法	0.0	52.7	94.7	126.0	10.7	26.0	46.3	428.7	750.7
E社	ｳﾚｱｰｾﾞ･GLDH･ICDH･UV法（ｱﾝﾓﾆｱ消去法）	-0.1	49.8	89.5	118.6	10.0	24.6	43.6	412.3	744.6
	ｳﾚｱｰｾﾞ･ADP比色またはUV法（回避法）	-0.1	50.2	89.6	119.2	9.8	24.5	44.1	435.6	797.0
F社	ｳﾚｱｰｾﾞUV法ｱﾝﾓﾆｱ消去法	0.0	50.5	90.5	118.7	10.2	24.8	44.4	416.7	744.0
	ｳﾚｱｰｾﾞUV法 LEDｱﾝﾓﾆｱ回避法	0.0	50.1	89.7	121.6	10.0	24.5	43.8	419.7	744.7
G社	Urease-GLDH法	0.0	42.0	84.0	126.0	10.0	25.0	44.0	441.0	714.0
H社	UV法（ｳﾚｱｰｾﾞ･GLDH）	0.0	49.7	89.7	118.7	10.0	25.0	44.0	419.7	751.7
	ｳﾚｱｰｾﾞ･GLDH法(ICDH)	0.3	50.0	89.7	121.0	10.3	25.3	45.0	413.3	743.0
I社	ｳﾚｱｰｾﾞ･GLDH･UV法	0.0	49.0	88.3	119.7	9.7	24.7	44.0	424.0	745.7
	ｳﾚｱｰｾﾞ･GLDH･ICDH･UV法	0.0	50.0	89.0	120.3	10.0	24.7	44.3	415.3	750.3
		0.0	50.0	90.3	121.0	10.0	24.7	44.0	426.0	765.7
J社	ｳﾚｱｰｾﾞUV法 ｱﾝﾓﾆｱ未消去	0.1	51.9	93.1	122.5	10.7	25.9	45.7	505.9	811.7
K社	ｳﾚｱｰｾﾞGLDH法（ｱﾝﾓﾆｱ消去）	0.0	50.0	89.7	119.3	10.0	24.0	43.0	446.0	759.0
L社	ｳﾚｱｰｾﾞGLDH･ｱﾝﾓﾆｱ消去系	0.0	50.4	91.2	121.4	10.0	24.6	43.5	449.0	793.7
M社	BPB指示薬法	0.0	49.0	91.0	123.3	8.0	26.3	48.3	468.7	763.7
N社	ｳﾚｱｰｾﾞUV法	0.0	57.2	101.4	129.4	11.2	26.0	45.4	471.8	746.8
	伝導率（電極法）	1.8	52.5	94.9	129.0	8.6	22.7	41.7	424.4	757.4
O社	UV法 LEDｱﾝﾓﾆｱ回避法	0.0	51.0	92.0	122.7	10.0	25.0	45.0	440.3	789.7
P社	LEDｱﾝﾓﾆｱ回避法	0.0	48.4	87.2	117.5	9.5	23.6	42.1	390.2	707.6
Q社	ｳﾚｱｰｾﾞUV法	-0.5	44.7	88.1	105.9	10.1	25.1	44.6	492.9	790.6
R社	ｳﾚｱｰｾﾞ･GIDH法、ｱﾝﾓﾆｱ消去法	0.0	52.0	92.7	123.0	10.0	24.0	43.3	424.3	760.7
S社	酵素法（ｳﾚｱｰｾﾞ･LED･UV法）	0.0	52.0	94.7	123.7	10.0	24.0	43.0	441.0	799.0
T社	ｳﾚｱｰｾﾞ･LEDH法	-0.2	51.2	91.2	122.9	9.2	25.4	42.4	415.3	740.1
U社	酵素法	0.0	49.7	90.0	119.8	9.8	24.5	43.6	412.6	741.7
V社	酵素法 ｳﾚｱｰｾﾞ GLDH,UV法（消去法）	0.2	50.2	90.1	118.4	11.1	27.7	46.0	424.5	813.7
	酵素法LED系ｱﾝﾓﾆｱ回避法	-0.2	48.9	85.4	112.7	9.8	23.5	42.8	396.3	723.1
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	50.9	90.8	120.9	10.0	24.9	44.2	431.9	756.8
	Min	-0.5	42.0	84.0	105.9	8.0	22.7	41.7	390.2	707.6
	Max	1.8	72.0	101.4	129.4	11.2	27.7	48.3	505.9	813.7
	STD	0.37	4.78	3.31	4.45	0.62	0.96	1.35	25.78	28.07
	C.V.%	-	9.4%	3.6%	3.7%	6.2%	3.9%	3.1%	6.0%	3.7%
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	50.1	90.5	120.4	10.1	24.9	44.1	430.9	757.5
	Min	-0.5	42.0	84.0	105.9	9.2	23.5	42.1	390.2	707.6
	Max	0.3	57.2	101.4	129.4	11.2	27.7	46.3	505.9	813.7
	STD	0.14	2.62	3.27	4.36	0.43	0.87	1.05	26.20	29.19
	C.V.%	-	5.2%	3.6%	3.6%	4.3%	3.5%	2.4%	6.1%	3.9%

Ⅱ－4　収束性（尿中尿素窒素；25検体平均収束性）

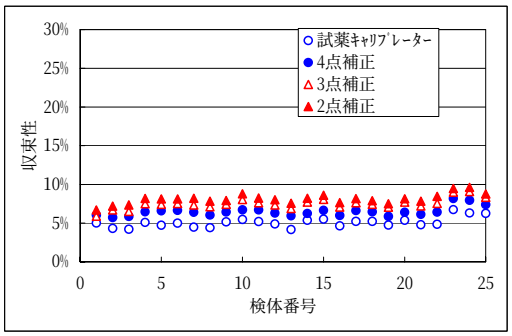
項目	分類	試薬標準液	標準候補品 4点補正	3点補正	2点補正
UN	総合	4.9%	6.2%	7.2%	11.0%
	酵素法	5.1%	6.5%	7.5%	8.1%

	4点補正 平均補正値	平均切片	平均ｒ
総合	1.0062	0.2326	0.9985
酵素法	1.0046	-0.0442	0.9994

1）総合



2）酵素法



Ⅰ－5　反応性（尿中グルコース）

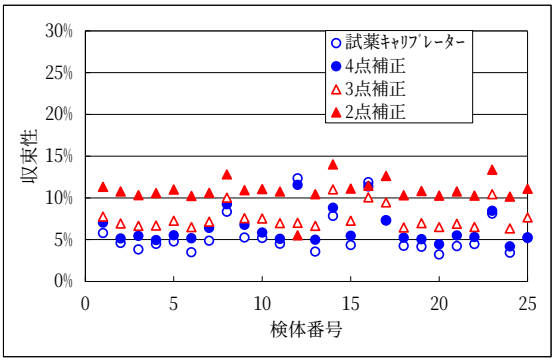
		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	GN3-6 M	GN3-6 H	GN3-6 HH	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	100.0	200.0	500.0	73.9	132.5	239.0		
B社	酵素（HK-G-6-PDH）法	0.0	101.7	202.5	505.1	74.6	133.6	239.9	27.9	290.8
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	101.8	201.9	537.0	77.0	135.6	248.4	29.4	299.0
E社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ法	0.0	100.0	198.7	492.7	74.7	132.3	236.7	27.3	287.0
	GLUCDH法	0.0	102.0	205.0	498.7	74.7	133.3	242.0	28.7	298.0
F社	酵素法	-0.1	99.4	200.3	501.8	74.2	132.4	238.5	27.5	288.4
G社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ法	0.0	104.3	207.3	513.0	75.7	135.7	244.3	29.0	297.7
H社	HK-G-6-PDH法	0.0	100.3	199.3	505.7	75.7	133.7	240.3	28.0	291.3
I社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ･UV法	0.0	99.3	199.3	494.3	74.0	132.7	238.3	28.0	286.7
	ﾌﾞﾄﾞｳ糖脱水素酵素UV法	0.0	99.7	200.0	495.0	74.3	132.0	238.7	29.0	294.7
J社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ法	-1.0	100.3	197.3	488.3	75.0	132.0	237.0	29.3	285.7
K社	H-G6PD法	0.0	102.0	202.7	502.0	73.7	133.3	238.7	28.0	288.3
L社	HK G6-PDH法	0.0	100.9	200.7	504.5	74.0	132.4	237.2	28.0	288.6
M社	GOD･POD法	39.7	99.7	200.3	516.7	78.0	134.7	234.7	28.7	290.7
N社	酸素消費電極法	0.0	97.7	195.6	490.1	74.4	132.0	237.5	28.2	287.9
O社	UV法 LEDｱﾝﾓﾆｱ回避法	0.0	100.0	201.3	501.0	73.7	131.0	237.3	28.0	287.7
P社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ･UV法	-0.1	98.2	197.8	495.2	71.1	128.3	230.3	27.0	282.5
Q社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ･UV法	0.0	97.7	195.6	504.3	72.4	127.3	229.3	26.9	285.1
R社	ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ･G-6-PDH法	0.0	103.7	206.0	513.3	74.0	131.0	237.3	28.0	290.0
S社	酵素法（ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ:HK:法）	0.0	100.7	201.7		75.0	134.0	239.0	29.0	299.3
T社	ｸﾞﾙｺｰｽ脱水素酵素法	0.0	101.7	202.3	504.0	75.0	132.7	239.0	28.3	290.5
V社	酵素法 ﾍｷｿｷﾅｰｾﾞ法	-0.1	104.0	208.2	522.4	77.2	137.0	251.3	28.5	302.8
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	1.8	100.7	201.1	504.3	74.7	132.7	238.9	28.2	291.1
	Min	-1.0	97.7	195.6	488.3	71.1	127.3	229.3	26.9	282.5
	Max	39.7	104.3	208.2	537.0	78.0	137.0	251.3	29.4	302.8
	STD	8.67	1.88	3.43	11.75	1.53	2.25	4.94	0.71	5.44
	C.V.%	-	1.9%	1.7%	2.3%	2.0%	1.7%	2.1%	2.5%	1.9%
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	2.0	100.8	201.4	503.2	74.6	132.6	238.4	28.2	290.8
	Min	-1.0	97.7	195.6	488.3	71.1	127.3	229.3	26.9	282.5
	Max	39.7	104.3	208.2	522.4	78.0	137.0	251.3	29.3	302.8
	STD	9.12	1.84	3.36	8.85	1.51	2.26	4.66	0.69	5.36
	C.V.%	-	1.8%	1.7%	1.8%	2.0%	1.7%	2.0%	2.5%	1.8%

Ⅱ－5　収束性（尿中グルコース；25検体平均収束性）

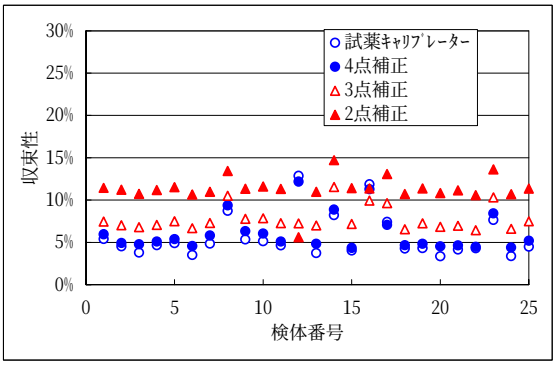
項目	分類	試薬標準液	標準候補品 4点補正	3点補正	2点補正
Glu	総合	5.6%	6.4%	7.6%	10.9%
	酵素法	5.6%	6.1%	7.8%	11.3%

	4点補正 平均補正値	平均切片	平均ｒ
総合	1.0023	0.9344	0.9993
酵素法	1.0035	1.1676	0.9994

1）総合



2）酵素法



Ⅰ－6　反応性（尿中クレアチニン）

		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	GN3-6 M	GN3-6 H	GN3-6 HH	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	10.0	50.0	100.0	0.75	1.78	6.60		
B社	酵素法	0.0	10.1	51.6	102.4	0.77	1.81	6.71	68.3	143.4
C社	ﾄﾞﾗｲｹﾐｽﾄﾘｰ法	0.0	11.3	47.2	96.6	0.88	1.92	6.88	56.4	126.9
E社	酵素法	0.0	10.1	51.1	101.7	0.74	1.78	6.63	68.5	144.0
F社	酵素法	0.0	10.3	51.4	102.2	0.73	1.80	6.70	68.3	141.6
G社	酵素法	0.0	10.0	50.5	101.3	0.70	1.73	6.47	67.3	140.9
H社	酵素法	0.0	10.0	50.7	101.2	0.80	1.80	6.73	68.1	144.3
I社	酵素比色法	0.0	9.9	49.0	97.2	0.80	1.80	6.60	65.1	136.0
J社	ﾔｯﾌｪ法	-0.3	7.2	49.0	97.1	0.80	1.90	6.67	56.13	123.80
K社	酵素法	0.0	10.3	52.0	104.3	0.80	1.80	6.60	68.1	149.8
L社	酵素法	0.0	10.1	51.6	103.6	0.76	1.75	6.55	68.1	142.5
N社	ﾔｯﾌｪ ﾚｰﾄ法	0.0	10.6	53.2	106.2	0.84	1.94	6.75	10.6	106.2
O社	酵素法	0.0	10.0	50.8	101.2	0.80	1.80	6.53	70.2	147.1
P社	酵素法	0.0	10.1	51.5	103.2	0.77	1.80	6.59	67.3	147.1
Q社	酵素法	0.0	9.3	52.8	104.9	0.69	1.52	6.05	67.9	145.7
R社	ｸﾚｱﾁﾆﾅｰｾﾞ･HMMPS法	0.0	10.2	50.6	100.4	0.77	1.80	6.53	66.7	140.7
S社	酵素法	0.0	9.6	50.1	99.9	0.80	1.87	6.70	67.8	143.3
T社	ｸﾚｱﾁﾆﾅｰｾﾞ･POD法	0.0	9.9	51.3	104.0	0.71	1.69	6.54	73.6	168.8
U社	酵素法	0.0	10.1	50.6	100.9	0.79	1.84	6.69	67.1	142.3
V社	酵素法	-0.1	10.5	54.4	109.3	0.67	1.79	6.66	72.8	154.2
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	10.0	51.0	102.0	0.77	1.80	6.61	64.1	141.5
	Min	-0.3	7.2	47.2	96.6	0.67	1.52	6.05	10.6	106.2
	Max	0.0	11.3	54.4	109.3	0.88	1.94	6.88	73.6	168.8
	STD	0.07	0.77	1.60	3.15	0.053	0.091	0.166	13.65	12.65
	C.V.%	-	7.7%	3.1%	3.1%	6.9%	5.0%	2.5%	21.3%	8.9%

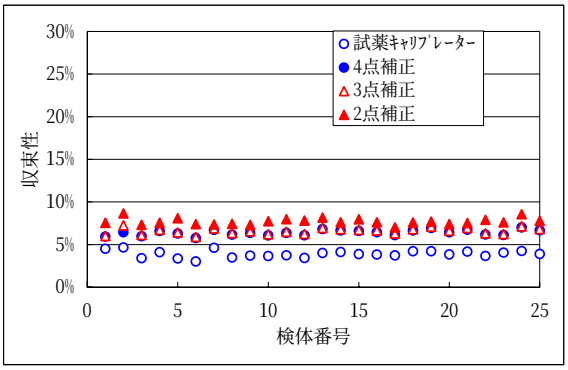
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	10.0	51.3	102.3	0.8	1.8	6.6	68.5	145.7
	Min	-0.1	9.3	49.0	97.2	0.7	1.5	6.1	65.1	136.0
	Max	0.0	10.5	54.4	109.3	0.8	1.9	6.7	73.6	168.8
	STD	0.02	0.26	1.20	2.65	0.04	0.08	0.16	2.14	7.41
	C.V.%	-	2.6%	2.3%	2.6%	5.8%	4.5%	2.4%	3.1%	5.1%

Ⅱ－6　収束性（尿中クレアチニン；25検体平均収束性）

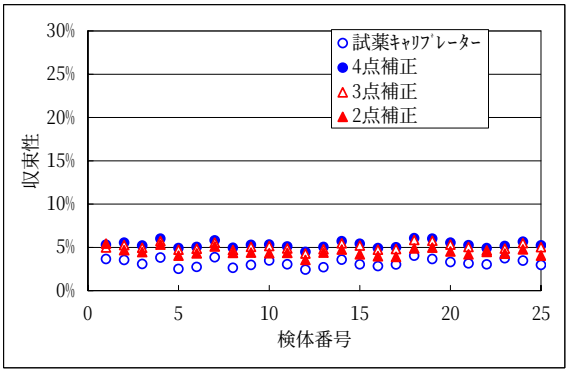
項目	分類	試薬標準液	標準候補品		
			4点補正	3点補正	2点補正
Cre	総合	3.9%	6.4%	6.6%	7.7%
	酵素法	3.2%	5.3%	5.1%	4.5%

	4点補正		
	平均補正値	平均切片	平均 r
総合	1.0176	-0.0941	0.9999
酵素法	1.0206	-0.0471	0.9999

1）総合



2）酵素法



Ⅰ－7　反応性（尿中無機リン）

		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0.0	5.3	10.6	21.2		
E社	PNP-XDH法	0.0	5.3	10.6	21.1	26.8	49.8
	MPL法	-0.1	5.1	10.6	21.4	26.4	48.8
F社	酵素法	0.0		10.8	21.5	26.0	48.0
	酵素法	0.0		10.7	21.3	26.2	48.6
G社	酵素法	0.0	6.2	12.3	24.5	26.1	48.8
H社	酵素法	0.0	5.4	10.9	21.9	27.0	50.2
I社	酵素比色法（PNP-XOD-POD系）	0.0	5.2	10.6	21.2	26.1	48.2
	酵素比色法（PNP-XOD-POD法）	0.0	5.2	10.6	21.1	26.1	48.3
J社	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.1	5.9	11.4	22.8	27.4	49.8
K社	酵素法	0.0	5.4	10.8	21.5	25.8	50.3
L社	酵素法	0.0	5.4	10.8	21.4	26.0	47.9
N社	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.0	5.1	10.6	20.9	26.4	48.6
	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.0	5.0	10.4	20.8	26.2	47.5
O社	酵素法	0.0	5.3	10.6	21.3	25.6	46.7
P社	酵素法	0.0	5.2	10.3	20.4	24.9	49.9
R社	PNP･XDH法	0.0	5.2	10.8	21.5	26.2	48.2
S社	ﾌｨｽｹ･ｻﾊﾞﾛｰ法	0.0	6.6	12.7	24.0	26.9	48.8
T社	ﾌﾘﾝﾖｸﾚｵｼﾄﾞﾎｽﾎﾘﾗｰｾﾞ･ｷｻﾝﾁﾝｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.0	5.2	10.3	20.5	25.0	46.6
U社	酵素法	0.0	5.3	10.6	21.3	25.6	48.0
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.4	10.9	21.6	26.1	48.6
	Min	-0.1	5.0	10.3	20.4	24.9	46.6
	Max	0.1	6.6	12.7	24.5	27.4	50.3
	STD	0.02	0.43	0.64	1.08	0.63	1.07
	C.V.%	-	7.9%	5.9%	5.0%	2.4%	2.2%

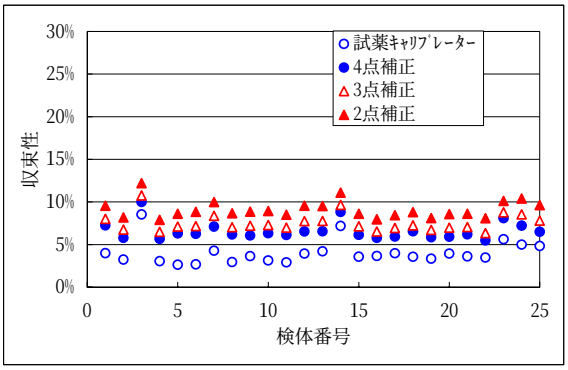
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	5.3	10.7	21.5	26.0	48.6
	Min	-0.1	5.1	10.3	20.4	24.9	46.6
	Max	0.0	6.2	12.3	24.5	27.0	50.3
	STD	0.02	0.27	0.48	0.93	0.57	1.14
	C.V.%	-	5.1%	4.4%	4.3%	2.2%	2.3%

Ⅱ－7　収束性（尿中無機リン；25検体平均収束性）

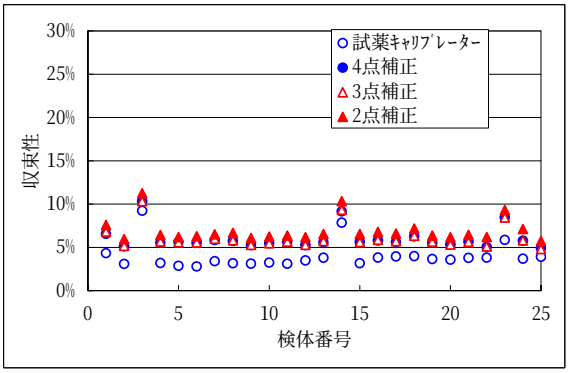
項目	分類	試薬標準液	標準候補品		
			4点補正	3点補正	2点補正
IP	総合	4.0%	6.6%	7.5%	9.1%
	酵素法	4.0%	6.0%	6.1%	6.9%

	4点補正		
	平均補正値	平均切片	平均ｒ
総合	1.0052	-0.0059	0.9999
酵素法	1.0129	-0.0060	1.0000

1）総合



2）酵素法



Ⅰ－8　反応性（尿中アミラーゼ）

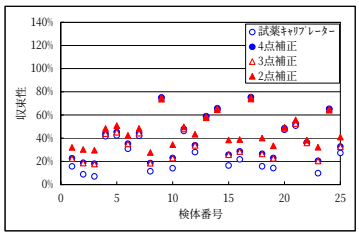
		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	JCERM	Liquichek Level1	Liquichek Level2
		0	100	300	600	352		
B社	B-pNP-G5法	0	100	301	605	349.4	54.7	164.3
C社	ﾄﾗｲｱｸﾐｽﾄﾘｰ法	0	60	173	331	114.7	39.3	103.3
D社	G3CNP法	0	94	284	565	337.3	57.7	170.3
E社	IFCC標準化対応法 G3-CNP基質	-1	99	300	597	352.0	59.3	175.7
F社	Gal-G2-CNP基質法	0	88	268	533	314.0	54.3	158.7
G社	Gal-G5-pNP法	0	99	305	617	357.3	55.0	163.3
H社	ﾌﾞﾛｯｸﾄﾞ pNP-G7法	0	97	301	602	358.0	63.7	179.7
	ﾌﾞﾛｯｸﾄﾞ pNP-G5法	0	97	301	605	353.0	56.0	164.7
I社	Gal-G2-CNP基質法	0	87	264	535	316.3	54.0	158.3
	Et-G7-pNP基質法	0	96	292	588	352.0	57.0	173.0
J社	G3-CNP法	-1	66	206	405	261.3	39.7	125.7
K社	Et-G7pNP法	1	95	296	591	352.3	59.0	178.0
L社	Gal-G5-PNP	0	100	307	613	355.3	53.7	162.3
M社	G5-PNP法	3	85	274	548	309.3	44.0	100.7
N社	ｵﾘｺﾞ糖基質UV法 G-4	0	100	291	580	350.7	64.0	184.7
O社	IFCC標準化対応法 (Gal-G-4-CNP)	0	87	266	529	309.0	53.3	154.0
	IFCC標準化対応法 (Gal-G-2-CNP)	0	99	300	601	347.3	54.0	162.3
P社	IFCC標準化対応法 (B-G5-β-CNP)	0	94	286	574	346.9	56.7	169.8
Q社	JSCC（IFCC）標準化対応法	0	244	491	973	349.4	58.2	174.9
R社	BG5P基質法	0	96	300	604	347.3	51.3	154.3
S社	Gal-G2CNP基質法（JSCC標準化対応法）	0	85	261	517	303.3	53.0	156.3
		0	87	263	521	303.3	53.0	156.3
		0	88	263	518	303.3	53.0	156.3
T社	G3-CNP法	0	95	286	570	336.7	58.0	166.0
U社	GalG4-CNP法	0	100	303	605	356.2	54.8	164.7
	Gal-G2-CNP基質法	0	89	270	541	318.0	54.1	158.9
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0	97	287	572	325.2	54.3	159.1
	Min	-1	60	173	331	114.7	39.3	100.7
	Max	3	244	491	973	358.0	64.0	184.7
	STD	0.7	31.6	51.8	104.4	49.43	5.82	20.28
	C.V.%	-	32.5%	18.1%	18.3%	15.2%	10.7%	12.7%
G2ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0	111	302	600	320	54	160
	Min	-0.1	85.0	261.3	517.0	303.3	53.0	156.3
	Max	0.3	244.4	491.1	973.4	349.4	58.2	174.9
	STD	0.19	58.91	84.64	167.37	20.38	1.84	6.71
	C.V.%	-	53.0%	28.1%	27.9%	6.4%	3.4%	4.2%
G3ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0	89	269	534	322	54	159
	Min	-0.7	66.0	205.7	405.3	261.3	39.7	125.7
	Max	0.0	99.0	300.3	597.3	352.0	59.3	175.7
	STD	0.38	15.20	42.81	87.14	40.95	9.36	22.84
	C.V.%	-	17.2%	15.9%	16.3%	12.7%	17.4%	14.3%
G5ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	1	96	296	595	346	53	154
	Min	0.0	85.3	274.3	548.0	309.3	44.0	100.7
	Max	3.0	100.2	307.0	616.7	357.3	56.7	169.8
	STD	1.09	5.21	11.79	24.86	16.44	4.36	24.05
	C.V.%	-	5.4%	4.0%	4.2%	4.8%	8.2%	15.6%
G7ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0	96	296	594	354	60	177
	Min	0.0	94.7	292.0	588.3	352.0	57.0	173.0
	Max	1.0	96.7	300.7	601.7	358.0	63.7	179.7
	STD	0.58	1.02	4.35	7.12	3.37	3.42	3.47
	C.V.%	-	1.1%	1.5%	1.2%	1.0%	5.7%	2.0%

Ⅱ－8　収束性（尿中アミラーゼ；25検体平均収束性）

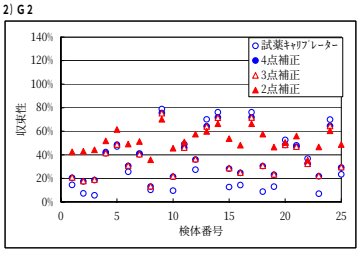
項目	分類	試薬標準液	標準候補品 4点補正	標準候補品 3点補正	標準候補品 2点補正
AMY	総合	34.6%	39.5%	39.3%	45.5%
	G2	34.7%	38.7%	38.9%	52.0%
	G3	33.4%	44.2%	44.0%	44.6%
	G5	19.2%	20.8%	20.7%	21.8%
	G7	44.6%	44.5%	44.7%	43.6%

	4点補正 平均補正値	4点補正 平均切片	4点補正 平均 r
総合	0.9620	1.5221	0.9998
G2	0.9950	5.4642	0.9997
G3	0.8916	-0.0377	1.0000
G5	0.9930	-1.2805	0.9999
G7	1.0721	9.7905	1.0005

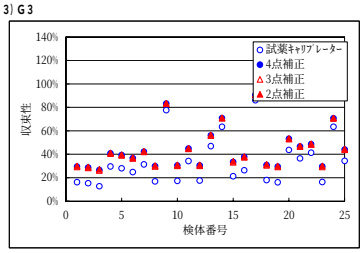
1）総合



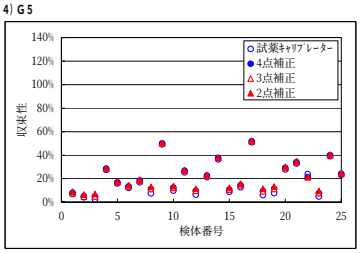
2）G2



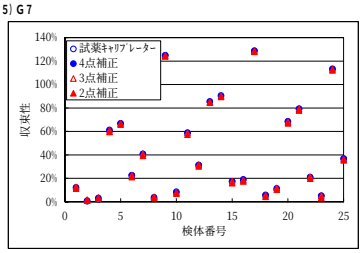
3）G3



4）G5



5）G7



２－２－３－２１　血清無機リン

要旨

1）血清無機リンについて、市販試薬におけるデータの収束性を可能にするための各項目の実試料系標準物質について検討した。
2）測定試薬を販売しているメーカーを中心にワーキンググループを設け、実試料系標準物質の性状規格、濃度設定を検討した。
3） 事前検討において決定した血清無機リンの実試料標準物質候補品プロトタイプを作製し、各メーカー使用のキャリブレーター、コントロール及び検体も含めて各メーカー試薬と組み合わせた場合の測定値収束性の効果を調査した。
4）測定値収束性の効果判定方法は各社の測定プロトコルに従い患者血清 25 例を測定した。その際、実試料標準物質候補品プロトタイプも検体として測定した。
解析方法は各キット間の収束性を CV により検証した。実試料標準物質候補品による測定値収束性の効果は標準候補品三濃度から求めた補正係数を各社キャリブレーターにて測定した測定値に乗じ確認した。
5）その結果、標準候補品による測定値収束性において各社キャリブレーターと同等の効果が見られ、設定した濃度、標準物質候補品のマトリックスも問題ないことが確認された。
6）今後の課題として値付けの手順、認証値と不確かさ、貯法及び安定性の確認等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルを完成させる。

１．目的

本実試料項目群、J4（尿中電解質成分、尿中生化学成分、血清無機リン）内の血清無機リンについて、実試料系標準物質の作製を行い、市販試薬における測定値収束性を得ることが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

	氏名	所属
責任者	小林 隆	栄研化学株式会社
運営管理者（臨薬協）	小林 隆	栄研化学株式会社
柱 1／J4 担当	中野 頼人	株式会社シノテスト
実行計画作成者	五来 隆	株式会社カイノス
技術アドバイザー	桑 克彦	筑波大学大学院　准教授
技術アドバイザー	森下 芳孝	三重大学病院中央検査部技師長
技術担当者	山下 章吾	アークレイマーケティング株式会社
技術担当者	小林 隆	栄研化学株式会社
技術担当者	樋渡 亮二	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	谷口 嘉之	オリエンタル酵母工業株式会社
技術担当者	五来 隆	株式会社カイノス
技術担当者	大和 隆	協和メデックス株式会社
技術担当者	吉田 敏之	シスメックス株式会社
技術担当者	田中 龍彦	株式会社シノテスト
技術担当者	根占 哲也	株式会社セロテック
技術担当者	斉藤 憲祐	デイド・ベーリング株式会社
技術担当者	瓶子 隆	デンカ生研株式会社
技術担当者	須釜 祐司	日東紡績株式会社
技術担当者	杉原 充	富士フイルム株式会社
技術担当者	横田 敦子	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	竹森 圭二	ミズホメディー株式会社
技術担当者	秋元 一隆	株式会社三菱化学ヤトロン
技術担当者	吉海 毅	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	花田 寿郎	和光純薬工業株式会社
技術担当者	細井 健二	第一化学薬品株式会社
技術担当者	瀬川 充	関東化学株式会社
技術担当者	水口 克彦	東洋紡績株式会社
技術担当者	久米 俊久	極東製薬工業株式会社

３．委員会の開催

⑦ 第一回会合：2006/05/16（火）13：00～17：00　（臨薬協会議室）

⑧ 第二回会合：2007/03/中旬に予定している。

４．標準物質の設定概要

４－１　実験計画書

（1）事前検討

二項目ずつ小グループに分け、各項目の標準物質候補品の濃度設定及びマトリックスを決定するため事前検討を行った。

項目	会社名	技術担当者
Mg Ca	株式会社セロテック	根占 哲也
	ベックマン・コールター株式会社	横田 敦子
	株式会社三菱化学ヤトロン	秋元 一隆
	和光純薬工業株式会社	花田 寿郎
	東洋紡績株式会社	水口 克彦
UN UA	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス	樋渡 亮二
	株式会社カイノス	五来 隆
	日東紡績株式会社	須釜 祐司
	富士写真フイルム株式会社	牧内 肇
	栄研化学株式会社	小林 隆
GLU CRE	株式会社シノテスト	田中 龍彦
	デイド ベーリング株式会社	斉藤 憲祐
	デンカ生研株式会社	瓶子 隆
	株式会社ミズホメディー	竹森 圭二
	極東製薬工業株式会社	久米 俊久
AMY	オリエンタル酵母工業株式会社	谷口 嘉之
	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	吉海 毅
	第一化学薬品株式会社	細井 健二
	東洋紡績株式会社	水口 克彦
IP sIP	アークレイマーケティング株式会社	山下 章吾
	協和メデックス株式会社	大和 隆
	シスメックス株式会社	吉田 敏之
	関東化学株式会社	木下 茂信

４－２　共同実験

４－２－１　測定試料

１）市販キャリブレーター

２）市販コントロール

Aalto Level 1U、CRPⅡS

３）HECTEF SRC 製造の実試料標準物質（３濃度）プロトタイプ

項目	濃度－１	濃度－２	濃度－３
血清 IP	3.8 mg/dL	6.8 mg/dL	9.8 mg/dL

４）患者検体

昭和大から各項目 25 例ずつ

４－２－２　測定方法

方法は各社尿測定のプロトコルに従い患者血清 25 例を測定した。その際、２）、３）も検体として測定した。実試料標準物質の収束性効果を確認するため、実試料標準候補品３濃度の傾きを補正値とし、４）に乗じ市販キャリブレーターと収束性を比較した。

４－２－３　測定結果

１）事前検討

事前検討結果から各項目の標準物質候補品のマトリックス及び濃度設定を以下のように決めた。

	IP
濃度-1	2mg/dL
濃度-2	5mg/dL
濃度-3	10mg/dL
原料	NaH_2PO_4
備考	事前に、イオンクロマトグラフィ法にて、人血清中の無機リン濃度を測定し、上記の試薬添加量から減量して、添加する。
マトリックス	ヒト血清（HECTEF SRC 含窒素標準物質等の規格
有効期間／保存	一年間／冷凍
値付け	イオンクロマトグラフィ法

2） 本実験

21 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 3.4%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 4.6%、3 点補正で 10.3%、2 点補正で 23.1%であった。

酵素法を原理とする 16 試薬の各標準液による 25 検体の平均収束性は 2.7%であり、標準候補品の測定値から補正を行った場合の平均収束性は 4 点補正で 4.2%、3 点補正で 4.3%、2 点補正で 4.3%であり、3、2 点補正での収束性が良くなった。

4 点補正では全ての試薬で各試薬標準液による収束性と標準候補品による収束性は同等であった。

5．実試料標準物質の作製プロトコル

5－1 トレーサビリティ連鎖

SI 単位系を最上位に位置づける体系とした。

5－2 試料の性状規格

今後設定する。

5－3 値付けの方法

今後設定する。

6．今後の課題

平成 19 年度は、これまでの結果を基に標準物質の作製プロトコルを確立するとともに保存安定性を確認する予定である。

7．結び

平成 18 年度の研究において、血清無機リンの実試料標準物質候補品のマトリックス、設定濃度、設定本数を定め、その有用性について確認した。平成 19 年度は残る課題を解決して、実試料標準物質を完成させる予定である。

8．謝辞

検討に必要な試料のご提供とご助言を戴いた昭和大学病院臨床検査部　高木康教授に深謝致します。

Ⅰ－1　反応性（血清無機リン）

		ﾌﾞﾗﾝｸ	標準物質候補品1	標準物質候補品2	標準物質候補品3	Aalto Level1U	Aalto CRP II S
		0.0	3.8	6.8	10.2		
A社	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝﾌﾞﾙｰ法	0.2	4.1	7.0	10.3	3.4	7.7
E社	PNP-XDH法	0.0	3.9	7.0	10.0	3.5	8.0
	MPL法	-0.1	3.8	6.8	9.8	3.3	7.8
F社	酵素法	0.0	4.0	7.1	10.2	3.5	8.1
	酵素法	0.0	3.9	7.0	10.0	3.5	8.0
G社	酵素法	0.0	3.9	7.1	10.2	3.5	8.1
H社	酵素法	0.0	3.9	7.1	10.2	3.5	8.2
I社	酵素比色法（PNP-XOD-POD系）	0.0	3.8	6.8	9.8	3.4	7.9
	酵素比色法（PNP-XOD-POD法）	0.0	3.8	6.8	9.8	3.4	7.9
J社	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.1	4.2	7.3	10.2	2.9	5.6
K社	酵素法	0.0	4.0	7.1	10.2	3.5	8.1
L社	酵素法	0.0	3.9	6.9	10.0	3.4	7.9
M社	PNP･XOD･POD法	0.1	3.7	6.8	10.3	3.5	7.7
N社	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.0	3.9	6.9	9.9	3.7	8.4
	ﾓﾘﾌﾞﾃﾞﾝ酸UV法	0.0	4.0	7.1	10.2	3.4	8.7
O社	酵素法	0.0	3.8	6.8	9.8	3.5	7.9
P社	酵素法	0.0	3.8	6.7	9.6	3.4	7.6
R社	PNP･XDH法	0.0	3.8	6.8	9.8	3.4	7.8
S社	ﾌｨｽｹ・ｻﾊﾞﾛｰ法	0.0	4.0	6.9	9.7	3.8	8.2
T社	ﾌﾘﾝｽｸﾚｵｼﾄﾞｵｷｼﾀｰｾﾞ・ｷﾅﾝﾁﾝｵｷｼﾀﾞｰｾﾞ法	0.0	3.8	6.8	9.7		
U社	酵素法	0.0	3.8	6.9	9.8	7.0	10.1
全ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	3.9	6.9	10.0	3.6	8.0
	Min	-0.1	3.7	6.7	9.6	2.9	5.6
	Max	0.2	4.2	7.3	10.3	7.0	10.1
	STD	0.05	0.12	0.16	0.22	0.81	0.78
	C.V.%	-	3.0%	2.3%	2.2%	22.4%	9.8%

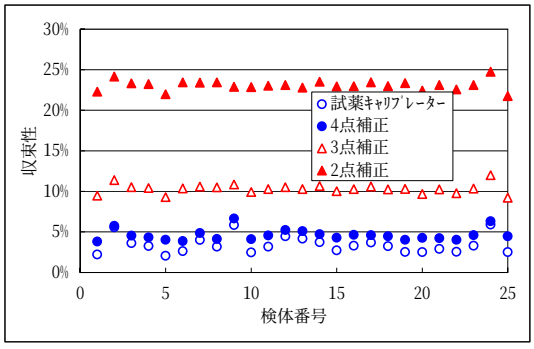
酵素法ﾃﾞｰﾀ集計結果	Mean	0.0	3.8	6.9	10.0	3.7	8.1
	Min	-0.1	3.7	6.7	9.6	3.3	7.6
	Max	0.1	4.0	7.1	10.3	7.0	10.1
	STD	0.03	0.08	0.14	0.22	0.92	0.59
	C.V.%	-	2.0%	2.1%	2.2%	25.0%	7.3%

Ⅱ－1　収束性（血清無機リン；25検体平均収束性）

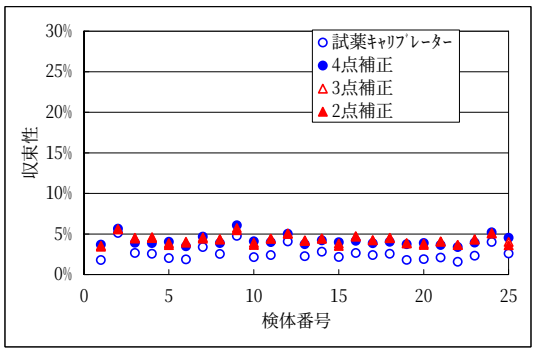
項目	分類	試薬標準液	標準候補品 4点補正	標準候補品 3点補正	標準候補品 2点補正
sIP	総合	3.4%	4.6%	10.3%	23.1%
	酵素法	2.7%	4.2%	4.3%	4.3%

	4点補正 平均補正値	4点補正 平均切片	4点補正 平均ｒ
総合	1.0176	0.0885	0.9975
酵素法	1.0151	-0.0013	0.9998

1）総合



2）酵素法



２－２－３－２２　血清リチウム（Li）

要旨

1)　「実試料標準物質候補品のプロトコルの作成を目的とする研究を実施した。

2)　平成 17 年度まとめ：血清リチウムについては、国内各種サーベイランスの対象になっていないことから、具体的な互換性について認識がない。実試料標準物質候補品(4 水準)を用い、検証実験を行い、有用性を確認した。

3)　昨年度結果より、実試料標準物質候補品の濃度を再考の上、3 水準とし、目標最高濃度を下げて、互換性、収束性への有用性を確認した。

4)　試薬・機器メーカーでは採用していない原子吸光法が検査センターで使用されており、実試料標準物質候補品の本方法への適用の可能性を検討した。

5)　実試料標準物質候補品による補正で、WG 参加メーカー・測定依頼検査センターデータの収束が認められ、有用性が確認された。測定方法として電極法、色素法、原子吸光法等、日常的に用いられる方法全般で有用性を認めた。

6)　実試料標準物質候補品の一応の確立ができたと考えられた。

１．目的

本調査研究項目群、J5（血清総ビリルビン、血清リチウム）内の血清リチウムにおいて、「血清リチウムの実試料標準物質作成のための SOP 作成のための、作業・確認実験を行うことを目的とする。

２．委員会の構成

【WG 名　J5（項目：血清総ビリルビン、血清リチウム)】

柱 1、J5 担当　中野　頼人（シノテスト）

運営管理者　水口　克彦（東洋紡）

アドバイザー（臨床）　なし

アドバイザー（技術）　桑　　克彦（筑波大学大学院人間科学総合研究科　准教授）

森下　芳孝（三重大学医学部附属病院中央検査部　技師長）

【技術担当者】

高山　正治（アルフレッサ　ファーマ）

秋山　英時（常光）

山下　章吾（アークレイ）

小林　隆（栄研化学）

成瀬　美華（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス）

斎藤　憲祐　山岡　耕司（デイド　ベーリング）

須釜　裕司（日東紡績）

杉内　充　（富士フィルム）

横田　敦子（ベックマン・コールター）

秋元　一隆（三菱化学ヤトロン）
吉海　毅　（ロシュ・ダイアグノスティックス）
花田　寿郎（和光純薬工業）

※上記のうち、血清リチウム担当者
責任者　秋山　英時（常光）
成瀬　美華（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス）
山岡　耕司（デイド　ベーリング）
横田　敦子（ベックマン・コールター）
吉海　毅　（ロシュ・ダイアグノスティックス）

３．委員会の開催
第 1 回会合　2006/06/07（水）13：00～15：30 第 2 回会合　2006/07/31（月）13：30～15：00
第 3 回会合　2006/12/18（月）10：00～11：30

４．標準物質の設定概要
４－１実験計画書
標準化および実試料標準物質候補品の設定は、以下の実施計画によって行った。
なお、活動途中での変更、修正も含まれている。

2006 年度実施事項
本研究の目的である実試料標準物質作成のための SOP 作成のための、作業・確認実験を行う。
(1)実試料候補品の作製・・・HECTEF SR センター（HECTEF SRC）に作製を依頼する。
①　リチウム実試料標準物質候補品
- NIST の公的標準 SRM 924a を購入し、試料を調製、-70℃以下の凍結品として保存する。
- ベース：ヒト血清（プール）。
- 濃度及びポイント数：2005 年のデータから、2.0 mmol/L は測定域を超える場合が認められたので、濃度を若干低めに設定する。3 ポイント、約 0.8、約 1.1、約 1.8 mmol/L
- 個数：各濃度×約 100 本
- 容器および容量：容器 1.5 mL バイアル、容量 1.5 mL。
- 安定化剤：入れない。
- 安定性・保管方法：凍結品（-70 ℃以下）。開封後、半日。
- 値付け作業は HECTEF-SRC が行う（調製に関わる詳細は、すべて開示いただくこと前提）。
- 実試料標準物質候補品の値付けの方法は HECTEF SRC に一任する。
- 可能であれば認証値および不確かさ（ISO GUM（註２））の算出も依頼する。

・　トレーサビリティ体系図（案）は後述。

(2)評価用実検体の準備

①リチウムイオンを添加したプール血清・・・HECTEF-SRC に作製を依頼する。

・　濃度は約 0.1～2.2 mmol/L 範囲　10 濃度＋非添加検体の 11 種。

・　容量は 1.5 mL×10 本。

②　リチウムイオンを添加した特殊検体・・・HECTEF SRC に作製を依頼する。

・　検体の入手は JCCLS から外部施設に依頼いただく。

・　単一検体では困難と考えられるので、検体混合で下記 5 種類をそれぞれ 10 mL 集めていただく。

(1)高脂血症

(2)肝機能異常

(3)溶血

(4)総タンパク　8 g/dL以上

(5)血糖 200 mg/dL 以上

・　添加濃度は、1 mmol/L。

・　添加後は 1 mL づつ分注し、10 本とする。

(3)分析

・　校正および測定は各社で定めた標準法に従い、実試料標準物質候補品、各社キャリブレーター、添加検体、添加特殊検体を、それぞれ検体として同時（連続）測定する。

・　測定回数　n = 3。

・　その後、実試料標準物質候補品の表示値（HECTEF SRC にて値付けしたもの）で、それぞれの検体を値付けし直した補正値で、収束結果を確認する（収束結果の計算には、市販の表計算ソフト（参加各社共通）を用いる)。

・上記の候補品・添加検体・添加特殊検体を、HECTEF SRC（フレーム光度法)、
参加メーカー（5 社）および検査センター 4 社または 5 社に分析を依頼する。
検査センターは主に原子吸光を用いているため。

(4)スケジュール

06･8 末まで　　実試料入手依頼先絞込み
この後 JCCLS と相談、同時に検査センター依頼を相談

06･10 末まで　　実試料の入手

07･1 末まで　　HECTEF SRC 標準品・HECTEF SRC 依頼ｽﾊﾟｲｸ検体入手

07･1-2　　実験開始

４－２共同実験

血清リチウムの測定に関しては、医療機関内で測定される検体以外に、外部委託される検体が多数あると考えられる。外部委託先（検査センター）では試薬メーカーから供給していない原子吸光法を使用していることもあり、実試料標準物質候補品の本方法への適用の可能性を確認しておく必要があると考えた。

・ 予備実験として、検査センターで実試料標準物質候補品のみ（本実験用とは添加濃度が異なる；約 1.0、1.5、2.0 mmol/L）の測定を依頼し、施設間でのばらつきを検討した。
・ 本実験では、WG 参加メーカーおよび検査センターで測定を実施した。

４－２－１測定試料

⑴実試料標準物質候補品

ヒト血清ベースで NIST の公的標準 SRM 924a を HECTEF SRC にて添加調製。
目的濃度 3 ポイント（約 0.8、約 1.1、約 1.8 mmol/L）凍結品（-70 ℃以下）。
HETEF SRC のおけるフレーム光度法による値付けは 0.82、 1.12、 1.82 mmol/L であった。

⑵評価用実検体

①リチウムイオンを添加したプール血清

濃度は約 0.1～2.2 mmol/L 範囲　10 濃度＋非添加検体の 11 種。

② リチウムイオンを添加した特殊プール検体（高脂血症、肝機能異常、溶血、高タンパク、高血糖）

４－２－２測定方法

予備実験として検査センター5 社に測定を依頼した。本実験測定施設数としては WG 参加メーカー5 社（6 法）および検査センター4 社の計 10 データであり、測定方法は以下の通りである。

A 社（WG 参加メーカー）　電極法
B 社（WG 参加メーカー）　色素法
C 社（WG 参加メーカー）　電極法
D 社（WG 参加メーカー）　色素法(ドライケミストリー)
E 社（WG 参加メーカー）　電極法
A 社（WG 参加メーカー）　色素法
F 社（検査センター）　原子吸光法
G 社（検査センター）　原子吸光法
H 社（検査センター）　電極法
I 社（検査センター）　電極法
※J 社（検査センター）　原子吸光法（予備実験のみ）

それぞれの施設のキャリブレーターを実施後、実試料標準物質候補品、評価用検体の測定を 3 重測定にて実施した（検査センター依頼に関しては多重測定指定せず）。

４－２－３測定結果

⑴予備実験結果

検査センター5 社に依頼した予備実験用実試料標準物質候補品測定結果から収束性を求めた結果を表 1 に示した。

表１　検査センターでの実試料標準物質候補品測定結果

	目標値	F社	G社	H社	I社	J社	平均	SD	CV(%)
方法	(暫定値)	原子吸光	原子吸光	電極	電極	原子吸光			
候補品 1	1.0	0.81	0.86	1.0	0.95	1.02	0.94	0.079	8.4
候補品 2	1.5	1.26	1.27	1.5	1.44	1.45	1.40	0.100	7.2
候補品 3	2.0	1.7	1.87	2.0	1.92	1.98	1.91	0.106	5.5

結果からは、低濃度において各施設間でややばらつきが認められ、本実験において、候補品および血清試料の同時測定依頼を実施し、補正効果の確認の必要性を認めた。

従って、WG 参加メーカーと同様に実試料標準物質候補品および実検体の測定依頼をすることとした。

(2)本実験の測定結果

①各施設の通常測定方法での、実試料標準物質候補品の測定値平均値は、0.82、1.12、1.81 mmol/L となり、フレーム光度法による値付け値 0.82、1.12、1.82 mmol/L とほぼ一致した。日常的に測定されている結果は平均的にはほぼ正確であることがわかった(表 2)。

また、全施設とも今回の最高濃度を測定できる測定域を持つと考えられた。

②　測定値・補正値の施設間差(幅)は試料の濃度に依存性は認められなかった（表 2)。

③ 各施設通常の測定方法でのスパイク検体測定値および特殊添加検体測定値と、
実試料標準物質候補品での補正値を比較し、候補品による収束効果を求めた。

検体中濃度 0.6 mmol/L 以下の低値では測定値・補正値とも CV が 5%を超えていた。ブランク補正のばらつきが影響していると考えられた。しかし 0.6 mmol/L 以上の濃度において、例としてスパイク検体 No.6 ; 1.0 mmol/L 添加においては、測定値が施設間差 0.13mmol/L、CV4.2%であるのに対し、補正値は施設間差 0.08 mmol/L、CV2.3%と明らかに収束効果が認められた。また、高脂血症、肝機能異常、溶血、高タンパク、高血糖血清へのリチウム添加検体においても、測定値の 5 種試料の CV%平均値が 7.1%であるのに対し、補正値の 5 種試料の CV%平均値　5.3%と明らかに収束効果が認められた。全ての試料において実試料標準物質候補品による補正で明らかな収束が認められた（表 2)。

④予備実験ではややばらつきが懸念された検査センターでの測定値に関しても、本実験ではばらつきが認められなかった。本実験により、電極法、色素法、原子吸光法等日常的に用いられる主たる方法全般に、候補品による補正効果があることが認められた(表 2)。

⑤ 補足として、特殊添加検体測定値において 1 施設がやや高い傾向があり、これがスパイク検体のばらつきより特殊添加検体のばらつきを大きくしている原因と考えられた。測定法による検体からの影響に関しては考慮する必要が残された。

表２．全施設測定値　補正値の平均値、幅、CV

		平均値(mmol/L)		R(mmol/L)		CV(%)	
		測定値	補正値	測定値	補正値	測定値	補正値
実試料標準物質候補品	1	0.82		0.13		4.5	
	2	1.12		0.13		3.6	
	3	1.81		0.15		2.9	
スパイク　検体	ﾍﾞｰｽ	0.04	0.04	0.20	0.20	－	－
	1	0.13	0.13	0.14	0.13	36.4	33.0
	2	0.22	0.22	0.13	0.12	16.5	14.6
	3	0.43	0.43	0.13	0.09	8.6	6.8
	4	0.63	0.63	0.11	0.05	6.1	3.3
	5	0.82	0.82	0.13	0.05	4.7	2.1
	6	1.02	1.03	0.13	0.08	4.2	2.3
	7	1.32	1.32	0.14	0.11	3.3	2.1
	8	1.61	1.62	0.16	0.14	3.1	2.1
	9	1.92	1.93	0.16	0.10	2.5	1.7
	10	2.24	2.25	0.11	0.12	1.9	1.7
特殊添加　検体	1	1.02	1.02	0.23	0.19	7.0	5.2
	2	1.05	1.05	0.23	0.18	6.5	4.8
	3	1.05	1.05	0.22	0.18	6.5	4.5
	4	1.07	1.07	0.28	0.22	7.5	5.8
	5	1.06	1.06	0.29	0.23	8.1	6.2

図1−1．各社測定値・補正前の比較

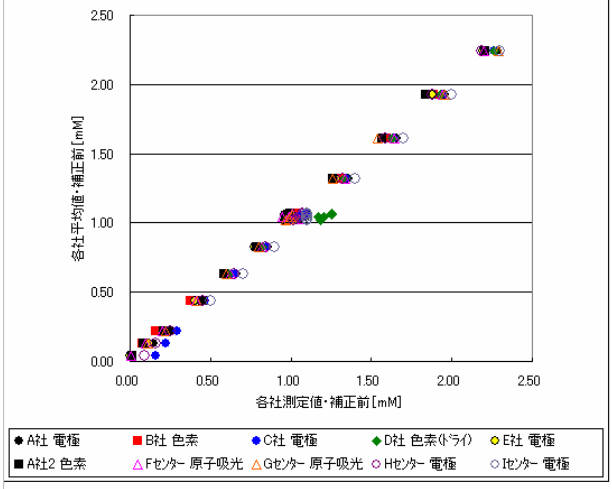


図1－2．各社測定値・補正前の比較

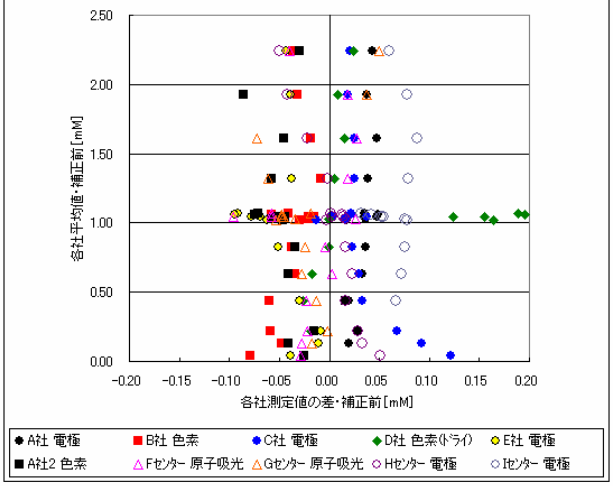


図1－3．各社測定値・補正後の比較

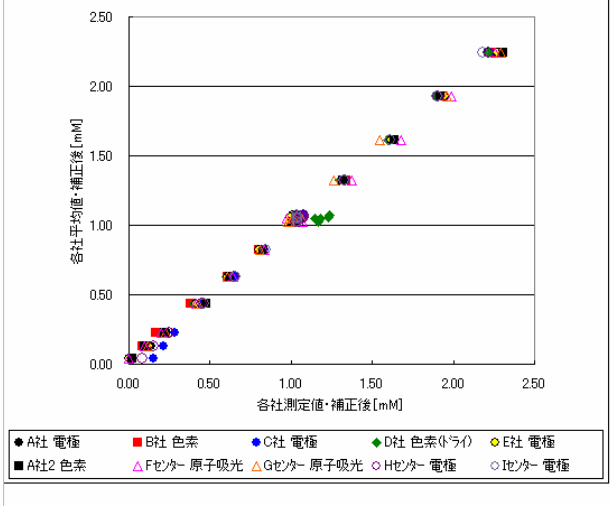
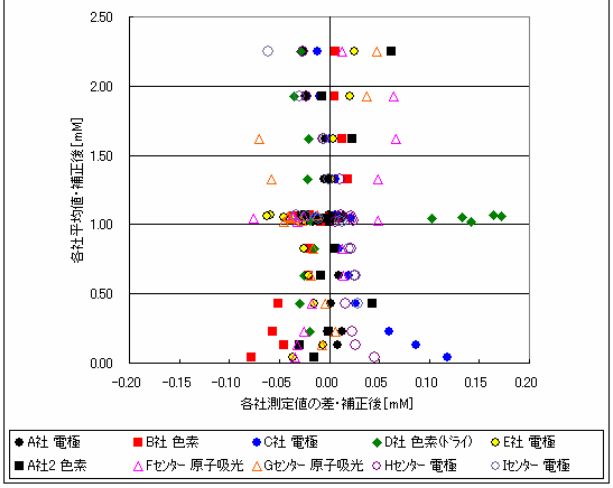


図1－4．各社測定値・補正後の比較



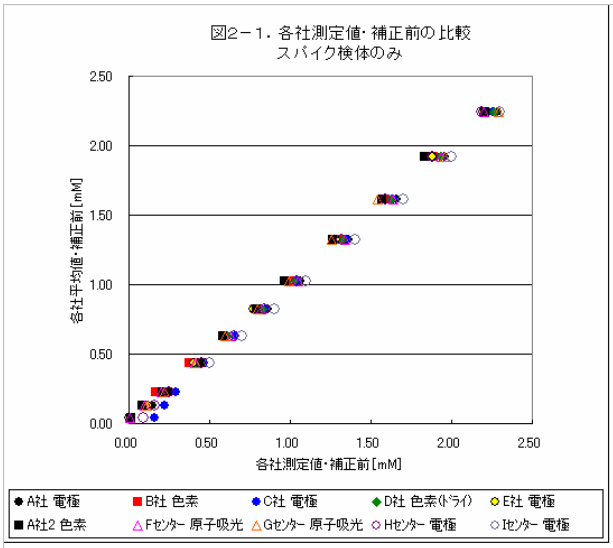


図2－1．各社測定値・補正前の比較
スパイク検体のみ
各社平均値・補正前[mM]
各社測定値・補正前[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

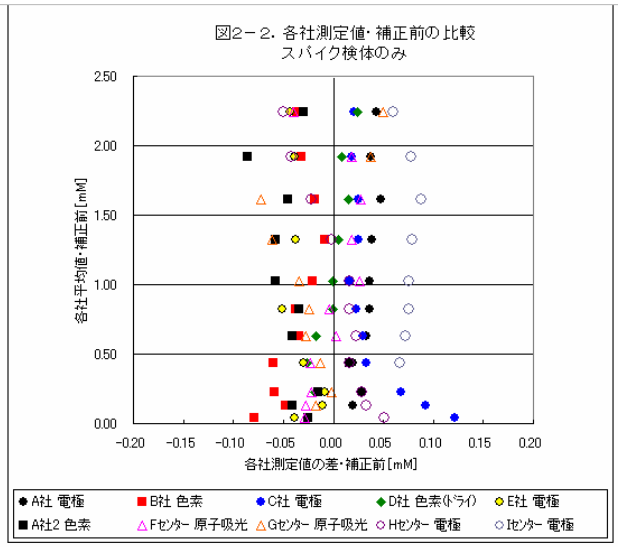


図2－2．各社測定値・補正前の比較
スパイク検体のみ
各社平均値・補正前[mM]
各社測定値の差・補正前[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

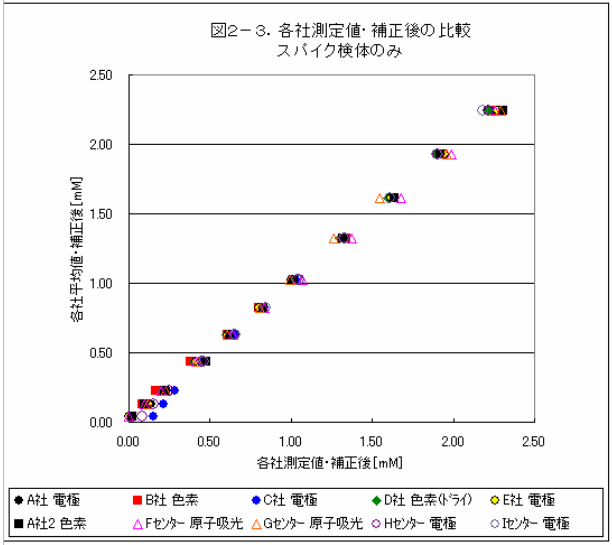


図2－3．各社測定値・補正後の比較
スパイク検体のみ
各社平均値・補正後[mM]
各社測定値・補正後[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

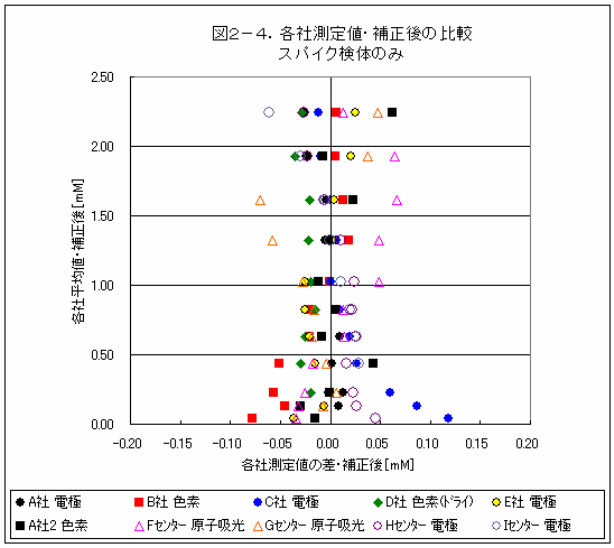


図2－4．各社測定値・補正後の比較
スパイク検体のみ
各社平均値・補正後[mM]
各社測定値の差・補正後[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

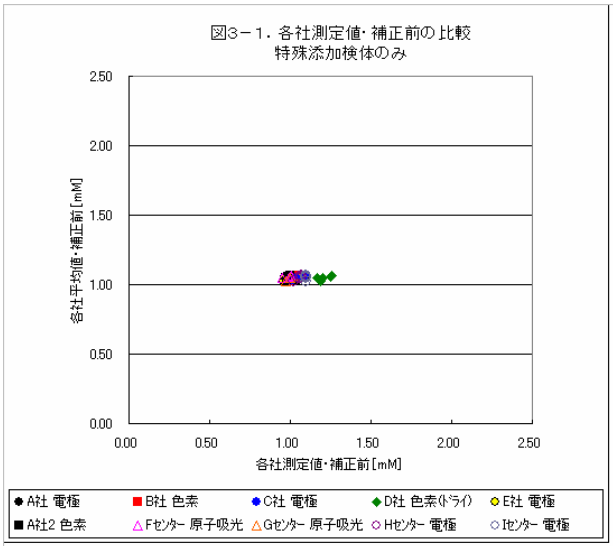


図3－1．各社測定値・補正前の比較
特殊添加検体のみ
各社平均値・補正前[mM]
各社測定値・補正前[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

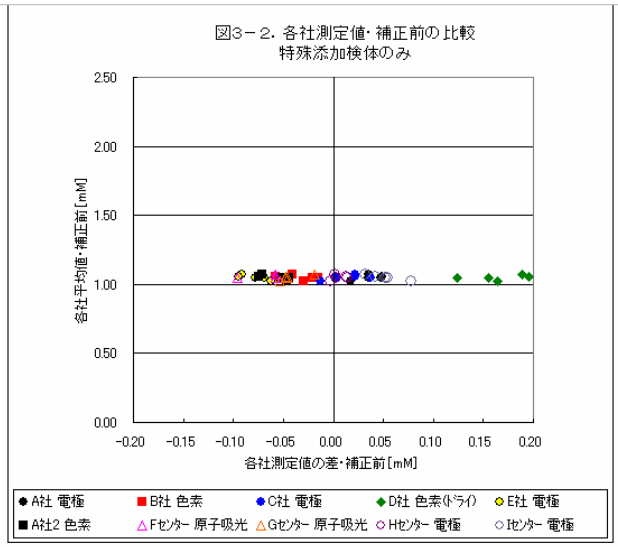


図3－2．各社測定値・補正前の比較
特殊添加検体のみ
各社平均値・補正前[mM]
各社測定値の差・補正前[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

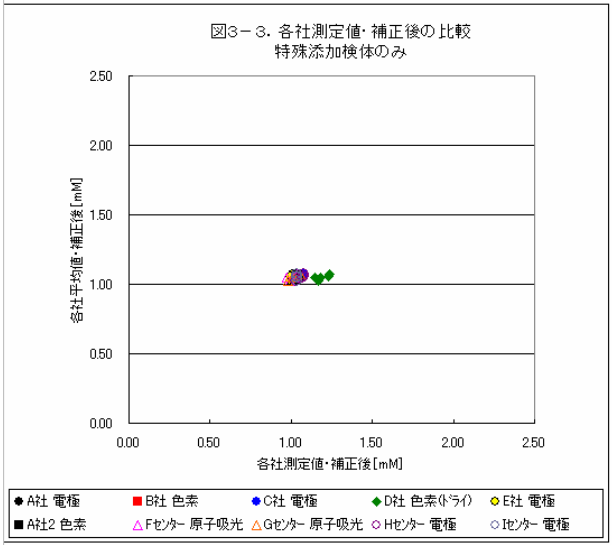


図3－3．各社測定値・補正後の比較
特殊添加検体のみ
各社平均値・補正後[mM]
各社測定値・補正後[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

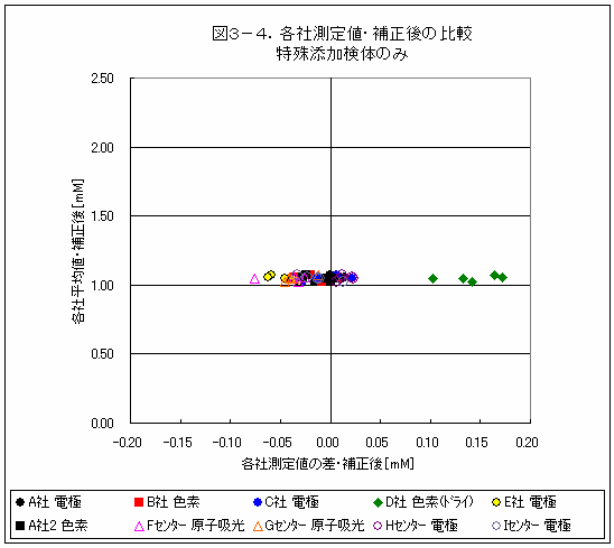


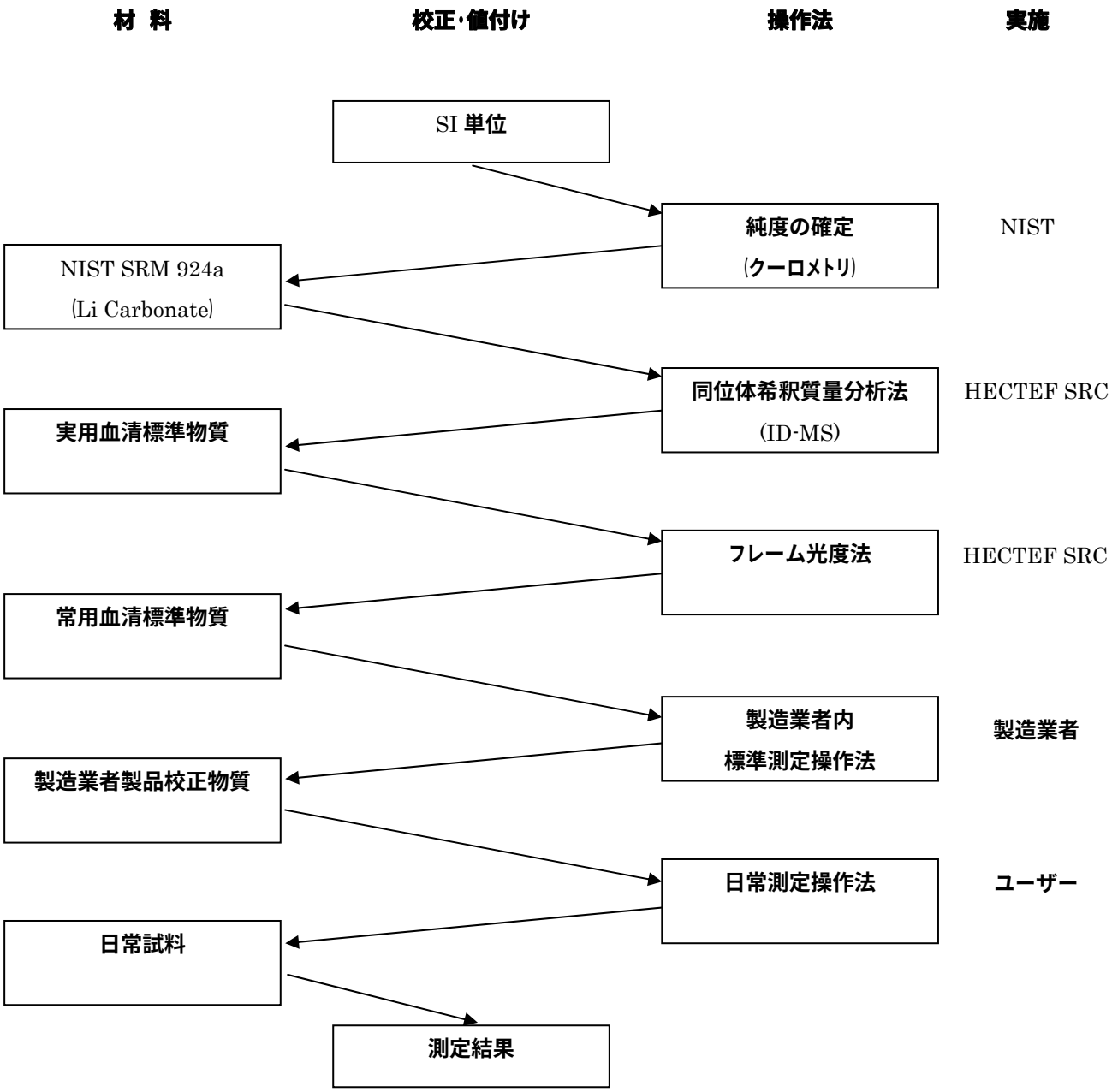
図3－4．各社測定値・補正後の比較
特殊添加検体のみ
各社平均値・補正後[mM]
各社測定値の差・補正後[mM]
A社 電極
B社 色素
C社 電極
D社 色素(ドライ)
E社 電極
A社2 色素
Fセンター 原子吸光
Gセンター 原子吸光
Hセンター 電極
Iセンター 電極

５．実試料標準物質の作製プロトコル

５－１　トレーサビリティ連鎖

基準分析法である同位体希釈質量分析法により値付けされたイオン電極用リチウム一次標準血清(Lot.L91-1)を校正用標準物質として、実用基準分析法であるフレーム光度法で測定する事によりトレーサビリティを確保した。

リチウム測定における構成の階層段階とトレーサビリティ連鎖



※ NIST SRM 909b は血清ベースだが、電極法には使えない。他には NIST SRM 956b（血清ベース、凍結品）などがある。

５－２　試料の性状規格

今回 HECTEF SRC にて調製の実試料標準物質候補品の仕様を以下に示す。

標準物質候補品の仕様

ベース：プール血清

濃度　1.0～2.0 mmol/L の範囲で 3 レベルとする。公的標準物資には NIST（SRM924a）を用いる。

おおよその濃度範囲は以下の通り。

レベル 1：約 0.8 mmol/L

レベル 2：約 1.1 mmol/L

レベル 3：約 1.8 mmol/L

密度　1.024 g/cm^3（25℃）とする。

粘性率　1.6mPa・s（20℃）とする。

水分量　0.928 kg/L（25℃）とする。

pH　7.6（37℃）とする。

電解質および共存イオン（Na^+、K^+、Cl^-、HCO_3^-）　いずれも基準範囲内のもの。

グルコース　基準範囲内のもの。

総タンパク、アルブミン、コレステロール、中性脂肪いずれも基準範囲内のもの。

アンモニア性窒素　0.15 mmol/dL とする。

アスコルビン酸　0.15 ng/L 以下とする。

感染性　HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出のもの。

試料を 1.5 mL ずつ充填し、直ちに-70 ℃以下に急速冷凍して保存する。ただし、試料の容量が多く充填が難しい場合は、バイアルを代えてもよい。

５－３　値付けの方法

基準分析法である同位体希釈質量分析法により値付けされたイオン電極用リチウム一次標準血清（Lot.L91-1）を校正用標準物質として、実用基準分析法であるフレーム光度法で測定した。HECTEF SRC にて実施した。

６．今後の課題

本結果より、血清リチウム測定値に関しては、現状においても高い収束性があり、さらに実試料標準物質候補品を確立・使用することで、一層のデータ収束が予想される。ただし、試薬・機器メーカーは日本国内だけでなく、世界的に製造・販売を行っているメーカーが多く、国際的な認証を得ることが必要と考えられる。

H19 年度は今回調製した実試料標準物質候補品の安定性評価を行う必要があると考える。

７．結び

2005 年で高濃度の候補品が測定範囲を超える問題が生じ、本年度は目標最高濃度を 1.8 mmol/L とした実試料標準物質候補品を調製し、良好な収束性を認めた。また、本年度は試薬・機器メーカー提供の測定値のみならず、検査センターまで検討を拡大することで日常的に用いられる主たる方法全般で、実試料標準物質候補品によるデータ収束効果を確認することができた。以上により実試料標準物質候補品の有用性は実証され、組成的にも一応の確立ができたと考えられる。

謝辞

検討に必要な試料のご提供とご助言を戴いた昭和大学病院臨床検査部　高木康教授に深謝致します。

添付資料

別紙１，２

別紙1.－1　血清リチウム　各施設各試料測定値

施設		各施設測定値(mmol/L)										平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV	
方法		A社 電極	B社 色素	C社 電極	D社 色素(ドライ)	E社 電極	A社2 色素	Fセンター 原子吸光	Gセンター 原子吸光	Hセンター 電極	Iセンター 電極						%	
実試料標準物質候補品	1	0.86	0.81	0.84	0.84	0.80	0.77	0.80	0.81	0.83	0.9	0.82	0.77	0.90	0.13	0.037	4.5	
	2	1.16	1.09	1.13	1.12	1.08	1.07	1.12	1.09	1.11	1.2	1.12	1.07	1.20	0.13	0.040	3.6	
	3	1.87	1.78	1.84	1.87	1.76	1.75	1.76	1.83	1.79	1.9	1.81	1.75	1.90	0.15	0.053	2.9	
スパイク検体	ベース	－	-0.04	0.16	－	0.00	0.01	0.01	－	0.09	－	0.04	-0.04	0.16	0.20	－	－	
	1	0.15	0.08	0.22	－	0.12	0.09	0.10	0.11	0.16	－	0.13	0.08	0.22	0.14	0.046	36.4	
	2	0.25	0.16	0.29	0.20	0.21	0.21	0.20	0.22	0.25	－	0.22	0.16	0.29	0.13	0.037	16.5	
	3	0.45	0.37	0.47	0.41	0.40	0.45	0.41	0.42	0.45	0.5	0.43	0.37	0.50	0.13	0.037	8.6	
	4	0.66	0.59	0.66	0.61	0.59	0.59	0.63	0.60	0.65	0.7	0.63	0.59	0.70	0.11	0.038	6.1	
	5	0.86	0.79	0.85	0.82	0.77	0.79	0.82	0.80	0.84	0.9	0.82	0.77	0.90	0.13	0.039	4.7	
	6	1.06	1.00	1.04	1.02	0.97	0.97	1.05	0.99	1.04	1.1	1.02	0.97	1.10	0.13	0.043	4.2	
	7	1.36	1.31	1.35	1.33	1.28	1.26	1.34	1.26	1.32	1.4	1.32	1.26	1.40	0.14	0.044	3.3	
	8	1.66	1.59	1.64	1.63	1.57	1.57	1.64	1.54	1.59	1.7	1.61	1.54	1.70	0.16	0.049	3.1	
	9	1.96	1.89	1.94	1.93	1.88	1.84	1.94	1.96	1.88	2.0	1.92	1.84	2.00	0.16	0.049	2.6	
	10	2.28	2.20	2.26	2.26	2.20	2.21	2.20	2.29	2.19	2.3	2.24	2.19	2.30	0.11	0.044	1.9	
特殊添加検体	1	1.04	0.99	1.01	1.19	0.96	0.98	0.97	0.97	1.02	1.1	1.02	0.96	1.19	0.23	0.071	7.0	CV%の平均
	2	1.08	1.03	1.05	1.20	0.97	1.00	0.99	1.00	1.05	1.1	1.05	0.97	1.20	0.23	0.069	6.5	
	3	1.09	1.09	1.08	1.17	0.98	0.99	0.95	1.00	1.06	1.1	1.05	0.95	1.17	0.22	0.068	6.5	7.1
	4	1.10	1.09	1.09	1.26	0.98	1.00	1.01	1.05	1.07	1.1	1.07	0.98	1.26	0.28	0.080	7.5	
	5	1.11	1.00	1.08	1.25	0.96	0.98	1.01	1.01	1.07	1.1	1.06	0.96	1.25	0.29	0.085	8.1	

別紙1－2.　血清リチウム　各施設各試料測定値の平均値からの差

施設		各施設測定値(mmol/L)										平均値	MIN.	MAX.	R	SD
方法		A社 電極	B社 色素	C社 電極	D社 色素(ドライ)	E社 電極	A社2 色素	Fセンター 原子吸光	Gセンター 原子吸光	Hセンター 電極	Iセンター 電極					
実試料標準物質候補品	1	0.86	0.81	0.84	0.84	0.80	0.77	0.80	0.81	0.83	0.9	0.82	0.77	0.90	0.13	0.037
	2	1.16	1.09	1.13	1.12	1.08	1.07	1.12	1.09	1.11	1.2	1.12	1.07	1.20	0.13	0.040
	3	1.87	1.78	1.84	1.87	1.76	1.75	1.76	1.83	1.79	1.9	1.81	1.75	1.90	0.15	0.053
スパイク検体	ベース	－	-0.08	0.12	－	-0.04	-0.03	-0.03	－	0.05	－	0.00	-0.08	0.12	0.20	－
	1	0.02	-0.05	0.09	－	-0.01	-0.04	-0.03	-0.02	0.03	－	0.00	-0.05	0.09	0.14	0.046
	2	0.03	-0.06	0.07	-0.02	-0.01	-0.02	-0.02	0.00	0.03	－	0.00	-0.06	0.07	0.13	0.037
	3	0.02	-0.06	0.03	-0.03	-0.03	0.02	-0.02	-0.01	0.02	0.07	0.00	-0.06	0.07	0.13	0.037
	4	0.03	-0.03	0.03	-0.02	-0.04	-0.04	0.00	-0.03	0.02	0.07	0.00	-0.04	0.07	0.11	0.038
	5	0.04	-0.04	0.02	0.00	-0.05	-0.03	0.00	-0.02	0.02	0.08	0.00	-0.05	0.08	0.13	0.039
	6	0.04	-0.02	0.02	0.00	-0.06	-0.06	0.03	-0.03	0.02	0.08	0.00	-0.06	0.08	0.13	0.043
	7	0.04	-0.01	0.03	0.01	-0.04	-0.06	0.02	-0.06	0.00	0.08	0.00	-0.06	0.08	0.14	0.044
	8	0.05	-0.02	0.02	0.01	-0.05	-0.05	0.03	-0.07	-0.02	0.09	0.00	-0.07	0.09	0.16	0.049
	9	0.04	-0.03	0.02	0.01	-0.04	-0.09	0.02	0.04	-0.04	0.08	0.00	-0.09	0.08	0.16	0.049
	10	0.04	-0.04	0.02	0.02	-0.04	-0.03	-0.04	0.05	-0.05	0.06	0.00	-0.05	0.06	0.11	0.044
特殊添加検体	1	0.02	-0.03	-0.01	0.16	-0.06	-0.05	-0.05	-0.05	0.00	0.08	0.00	-0.06	0.16	0.23	0.071
	2	0.04	-0.02	0.00	0.16	-0.08	-0.04	-0.06	-0.05	0.00	0.05	0.00	-0.08	0.16	0.23	0.069
	3	0.05	-0.02	0.04	0.12	-0.07	-0.05	-0.10	-0.05	0.01	0.05	0.00	-0.10	0.12	0.22	0.068
	4	0.04	-0.04	0.02	0.19	-0.09	-0.07	-0.06	-0.02	0.00	0.09	0.00	-0.09	0.19	0.28	0.080
	5	0.05	-0.06	0.02	0.20	-0.09	-0.07	-0.05	-0.05	0.01	0.04	0.00	-0.09	0.20	0.29	0.085

別紙2.－1　血清リチウム　各施設　実試料標準物質候補品による補正値

			実試料標準物質候補品補正値(mmol/L)															
施設			A社	B社	C社	D社	E社	A社2	Fセンター	Gセンター	Hセンター	Iセンター	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV
方法			電極	色素	電極	色素(ドライ)	電極	色素	原子吸光	原子吸光	電極	電極						%
回帰式	傾き	a	0.976	1.022	0.990	0.977	1.033	1.041	1.030	0.997	1.017	0.957	1.00	0.96	1.04			
	y切片	b	-0.007	0.000	-0.004	0.006	0.001	0.008	-0.007	0.010	-0.009	-0.017	0.00	-0.02	0.01			
	相関係数	r	1.01	1.00	1.00	0.99	1.00	0.99	1.01	0.99	1.01	1.02	1.00	0.99	1.02			
スパイク検体		ベース	－	-0.04	0.15	－	0.00	0.02	0.00	－	0.09	－	0.04	-0.04	0.15	0.20	－	－
		1	0.14	0.08	0.21	－	0.12	0.10	0.10	0.12	0.15	－	0.13	0.08	0.21	0.13	0.042	33.0
		2	0.24	0.17	0.28	0.20	0.22	0.22	0.20	0.23	0.25	－	0.22	0.17	0.28	0.12	0.033	14.6
		3	0.43	0.38	0.46	0.40	0.42	0.48	0.41	0.43	0.45	0.46	0.43	0.38	0.48	0.09	0.029	6.8
		4	0.64	0.61	0.65	0.60	0.61	0.62	0.64	0.61	0.65	0.65	0.63	0.60	0.65	0.05	0.021	3.3
		5	0.83	0.80	0.83	0.81	0.80	0.83	0.84	0.81	0.85	0.84	0.82	0.80	0.85	0.05	0.017	2.1
		6	1.03	1.03	1.03	1.01	1.00	1.01	1.07	1.00	1.05	1.04	1.03	1.00	1.07	0.08	0.024	2.3
		7	1.32	1.34	1.33	1.30	1.33	1.32	1.37	1.27	1.33	1.32	1.32	1.27	1.37	0.11	0.027	2.1
		8	1.61	1.63	1.62	1.59	1.62	1.64	1.68	1.56	1.61	1.61	1.62	1.56	1.68	0.14	0.034	2.1
		9	1.90	1.93	1.92	1.89	1.95	1.92	1.99	1.96	1.90	1.90	1.93	1.89	1.99	0.10	0.032	1.7
		10	2.22	2.25	2.23	2.22	2.27	2.31	2.26	2.29	2.22	2.18	2.25	2.18	2.31	0.12	0.038	1.7
特殊添加検体		1	1.01	1.01	1.00	1.16	0.99	1.02	0.99	0.98	1.03	1.04	1.02	0.98	1.16	0.19	0.053	5.2
		2	1.05	1.05	1.04	1.18	1.00	1.05	1.01	1.01	1.06	1.04	1.05	1.00	1.18	0.18	0.051	4.8
		3	1.06	1.05	1.07	1.15	1.01	1.04	0.97	1.01	1.07	1.04	1.05	0.97	1.15	0.18	0.048	4.5
		4	1.07	1.06	1.08	1.23	1.01	1.04	1.03	1.06	1.08	1.04	1.07	1.01	1.23	0.22	0.062	5.8
		5	1.07	1.02	1.07	1.23	1.00	1.03	1.03	1.02	1.08	1.04	1.06	1.00	1.23	0.23	0.066	6.2

CV%の平均
5.3

別紙2－2.　血清リチウム　各施設各試料測定値の平均値からの差

			各施設測定値(mmol/L)														
施設			A社	B社	C社	D社	E社	A社2	Fセンター	Gセンター	Hセンター	Iセンター	平均値	MIN.	MAX.	R	SD
方法			電極	色素	電極	色素(ドライ)	電極	色素	原子吸光	原子吸光	電極	電極					
実試料標準物質候補品		1	0.86	0.81	0.84	0.84	0.80	0.77	0.80	0.81	0.83	0.9	0.82	0.77	0.90	0.13	0.037
		2	1.16	1.09	1.13	1.12	1.08	1.07	1.12	1.09	1.11	1.2	1.12	1.07	1.20	0.13	0.040
		3	1.87	1.78	1.84	1.87	1.76	1.75	1.76	1.83	1.79	1.9	1.81	1.75	1.90	0.15	0.053
スパイク検体		ベース	－	-0.08	0.12	－	-0.04	-0.02	-0.03	－	0.05	－	0.00	-0.08	0.12	0.20	－
		1	0.01	-0.05	0.09	－	-0.01	-0.03	-0.03	-0.01	0.03	－	0.00	-0.05	0.09	0.13	0.042
		2	0.01	-0.06	0.06	-0.02	0.00	0.00	-0.02	0.01	0.02	－	0.00	-0.06	0.06	0.12	0.033
		3	0.00	-0.05	0.03	-0.03	-0.02	0.04	-0.02	0.00	0.02	0.03	0.00	-0.05	0.04	0.09	0.029
		4	0.01	-0.02	0.02	-0.03	-0.02	-0.01	0.01	-0.02	0.03	0.03	0.00	-0.03	0.03	0.05	0.021
		5	0.01	-0.02	0.01	-0.01	-0.02	0.01	0.01	-0.02	0.02	0.02	0.00	-0.02	0.02	0.05	0.017
		6	0.00	0.00	0.00	-0.02	-0.03	-0.01	0.05	-0.03	0.02	0.01	0.00	-0.03	0.05	0.08	0.024
		7	-0.01	0.02	0.01	-0.02	0.00	0.00	0.05	-0.06	0.01	0.00	0.00	-0.06	0.05	0.11	0.027
		8	0.00	0.01	0.00	-0.02	0.00	0.02	0.07	-0.07	-0.01	-0.01	0.00	-0.07	0.07	0.14	0.034
		9	-0.02	0.00	-0.01	-0.04	0.02	-0.01	0.06	0.04	-0.02	-0.03	0.00	-0.04	0.06	0.10	0.032
		10	-0.03	0.01	-0.01	-0.03	0.02	0.06	0.01	0.05	-0.03	-0.06	0.00	-0.06	0.06	0.12	0.038
特殊添加検体		1	-0.02	-0.01	-0.03	0.14	-0.03	0.00	-0.03	-0.05	0.01	0.01	0.00	-0.05	0.14	0.19	0.053
		2	0.00	0.00	-0.01	0.13	-0.05	0.00	-0.04	-0.04	0.01	-0.01	0.00	-0.05	0.13	0.18	0.051
		3	0.01	0.01	0.02	0.10	-0.04	0.00	-0.08	-0.04	0.02	-0.01	0.00	-0.08	0.10	0.18	0.048
		4	0.00	-0.02	0.01	0.16	-0.06	-0.02	-0.04	-0.01	0.01	-0.03	0.00	-0.06	0.16	0.22	0.062
		5	0.01	-0.04	0.01	0.17	-0.06	-0.03	-0.03	-0.04	0.02	-0.02	0.00	-0.06	0.17	0.23	0.066

２－２－３－２３　血清総ビリルビン（BIL）

要旨

1)　実試料標準物質候補品のプロトコルの作成を目的とする研究を実施した。

2)　平成 17 年度まとめ：血清ビリルビンについては、測定方法により収束効果に差が存在した。酸化法（酵素、化学）では、各社キャリブレーターで収束しており、実試料標準物質候補品を用いても更なる収束は認めなかった。ジアゾ法では収束効果を認め、実試料標準物質作成の有用性を認めた。

3)本年度は、ジアゾ法をさらに収束させること、加えて全測定法を収束させることを目的とし、また調製上の問題･安定性の観点からも､水溶性ベースの実試料標準物質候補品 2 種を追加し、血清ベースと合せ 3 種組成の標準物質候補品を調製、これらにより収束性を検討した。

4)各社試薬間の収束性を CV%により検証した結果、全測定法において、各社キャリブレーターによる測定値より収束が悪かった。すなわち 3 種標準物質候補品による補正は収束効果を示さなかった。酸化法に関しては、標準物質候補品の種類、補正方法により若干の差は認められるが、補正を行うことで収束の傾向を認めた。課題であったジアゾ法に関しては、標準物質候補品全ての種類･補正方法で、各社キャリブレーターによる測定値より収束させることはできなかった。

5)実試料標準物質候補品のベース種類に関しては、水溶性ベース候補品 2 種は、血清ベース候補品に比べ良好な収束効果を示すことはなかった。

6)データの収束に関しては、昨年とは異なる傾向を得、単独候補品による総ビリルビン測定法全体、ジアゾ法の収束は困難であると推察できる結果となった。

１．目的

本調査研究項目群、Ｊ５（血清総ビリルビン、血清リチウム）内の血清ビリルビンにおいて、「血清ビリルビンの実試料標準物質作成のための SOP 作成のための、作業・確認実験を行うことを目的とする。

２．委員会の構成

【WG 名　Ｊ５（項目：血清総ビリルビン、血清リチウム)】

柱 1、Ｊ５担当　中野　頼人（シノテスト）

運営管理者　水口　克彦（東洋紡）

アドバイザー（臨床）　なし

アドバイザー（技術）　桑　　克彦（筑波大学大学院人間科学総合研究科　准教授）

森下　芳孝（三重大学医学部附属病院中央検査部　技師長）

【技術担当者】

高山　正治（アルフレッサ　ファーマ）

秋山　英時（常光）

山下　章吾（アークレイ）

小林　隆（栄研化学）
成瀬　美華（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス）
斎藤　憲祐　山岡　耕司（デイド　ベーリング）
須釜　裕司（日東紡績）
杉内　充　（富士フィルム）
横田　敦子（ベックマン・コールター）
秋元　一隆（三菱化学ヤトロン）
吉海　毅　（ロシュ・ダイアグノスティックス）
花田　寿郎（和光純薬工業）

※上記のうち、血清ビリルビン担当者
高山　正治（アルフレッサ　ファーマ）
山下　章吾（アークレイ）
小林　隆（栄研化学）
成瀬　美華（オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス）
斎藤　憲祐（デイド　ベーリング）
須釜　裕司（日東紡績）
杉内　充　（富士フィルム）
横田　敦子（ベックマン・コールター）
秋元　一隆（三菱化学ヤトロン）
吉海　毅　（ロシュ・ダイアグノスティックス）
花田　寿郎（和光純薬工業）

３．委員会の開催
第１回会合　2006/06/07（水）13：00～15：30
第２回会合　2006/07/31（月）15：00～17：00

４．標準物質の設定概要
４－１実験計画書
標準化および実試料標準物質候補品の設定は、以下の実施計画によって行った。
なお、活動途中での変更、修正も含まれている。
2006 年度実施事項
本研究の目的である実試料標準物質作成のための SOP 作成のための、作業・確認実験を行う。
(1)実試料候補品の作製・・・HECTEF SRC に作製を依頼する。
③　ビリルビン実試料標準物質候補品
- NIST の公的標準 SRM 916a を購入し、試料を調製、-70 ℃以下の凍結品として保存する。
- ベース：BSA 4%水溶液、BSA 4%水溶液+EDTA･2Na　2 mM および血清ベースの 3 種

- 濃度及びポイント数：3 ポイント、約 5.0、約 10.0、約 15.0 mg/dL
- 個数：各濃度×33 本（11 社に 3 本ずつ）
- 容器および容量：容器 1.5 mL バイアル、容量 1 mL。
- 安定性・保管方法：凍結品（-70 ℃以下）。開封後、半日。
- 各社における保存は、-70 ℃以下で行う。
- 実試料標準物質候補品の値付付けの方法は HECTEF-SRC に依頼する。
- 可能であれば認証値および不確かさ（ISO GUM（註 2））の算出も依頼する。
- トレーサビリティ体系図（案）は後述。

⑵評価用実検体の準備

① 実検体の入手・・・JCCLS から外部施設に依頼いただく。

- 単一検体では困難と考えられるので、同等の濃度の検体混合で集めていただく。
- 濃度は、10 mg/dL 以下　5 試料以上、10 mg/dL 以上　5 試料以上。
- 容量は 0.5 mL×15 本。
- 校正および測定は各社で定めた標準法に従い、実試料標準物質候補品、各社キャリブレーター、添加検体を、それぞれ検体として同時（連続）測定する。
- 測定回数　n = 5。
- その後、実試料標準物質候補品の表示値（HECTEF SRC で値付け）、それぞれの検体を検量しなおした補正値で、収束結果を確認する（収束結果の計算には、市販の表計算ソフト（参加各社共通）を用いる）。

⑶分析

・上記の実試料標準物質候補品を、参加メーカー（11 社）で分析する。

・代表数社により保存安定性（凍結）の評価も実施する。

⑷スケジュール

06･12 末目標　　実試料の入手　および HECTEF SRC にて候補品調製

07･1-2　　実験実施

４－２共同実験

血清ビリルビンに関しては、実試料標準物質候補品での補正によりジアゾ法をどこまで収束することができるか、さらに全方法を収束することができるかの検証を目的とした。

昨年度は血清ベースのみで実試料標準物質候補品を作成したが、本年度は調製上の問題・安定性の観点からも、水溶性ベースの実試料標準物質候補品を作成し、各方法収束可能か検討を行う。

４－２－１測定試料

⑴実試料標準物質候補品

ベースとして、ヒト血清、BSA 添加水溶性ベース、BSA および安定化剤 EDTA･2Na 添加水溶性ベース　の 3 種とし、NIST の公的標準 SRM 916a を用い、HECTEF SRC にて添加調製を行

った。

それぞれの添加濃度は 3 ポイント（約 5.0、約 10.0、約 15.0 mg/dL）であり、調製後は遮光凍結保存とした（-70 ℃以下）。

⑵評価用実検体

単一検体では困難と考えられたので、同等の濃度の検体混合で集めていただいた。

本実験に供した評価用検体の濃度は、10 mg/dL 以下　18 試料、10 mg/dL 以上　7 試料であった。

４－２－２測定方法

本実験測定施設数として参加メーカー11 社（12 法）であり、測定方法分類は以下の通りである。

酸化法（酵素法）	自動分析機型	4 法
酸化法（化学酸化法）	自動分析機型	2 法
ジアゾ法	自動分析機型	3 法
ジアゾ法	ドライケミストリー型	3 法

自社キャリブレーターによるキャリブレーションを実施後、実試料標準物質候補品、評価用実検体の測定を 5 重測定にて実施した。

４－２－３測定結果

測定法に関しては、(A)全測定法、(B)酸化法（酵素法、化学酸化法）および(C)ジアゾ法に分別して評価を行った。それぞれの測定値を別紙 1 から 3 に示す。

3 種それぞれの標準物質候補品による補正は、候補品のベース種類により、

⑴ ヒト血清ベース品による補正

⑵ BSA 添加水溶性ベース品による補正

⑶ BSA および安定化剤 EDTA･2Na 添加水溶性ベース品による補正

に分けて検討した。

また、測定値に対する標準物質候補品による補正の方法は、

(i)　3 濃度を用いた回帰式による補正　（別紙 4）

(ii) 濃度 5 mg/dL を用いた補正　（別紙 5）

(iii) 濃度 10 mg/dL を用いた補正　（別紙 6）

(iv)濃度 15 mg/dL を用いた補正　（別紙 7）

を用い、結果を比較した。

各試料の測定値、補正値について各社(方法)間での CV%(＝ばらつき)を求め、比較することで収束性を検討した(別紙 8,9,10)。結果を以下に示す。

(A) 全測定法

(1)～(3)の各補正では(1)ヒト血清ベースによる補正が良好な収束を示したが、各社キャリブレーターによる測定値（補正なし）より収束しなかった。すなわち標準物質候補品による補正は収束効果を示さなかった。

(B)酸化法

標準物質候補品の種類、補正方法により若干の差は認められるが、補正を行うことで収束の傾向を認めた。これは昨年の傾向とは異なる結果であった。

(C)ジアゾ法

標準物質候補品の全ての種類･補正方法で、各社キャリブレーターによる測定値より収束を認めなかった。昨年と異なる結果となった。

標準物質候補品のベース種類に関しては、水溶性ベース候補品（2 種）は、血清ベース候補品に比べ良好な収束効果を示すことはなかった。データの収束に関しては、昨年とは異なる傾向を得、単独候補品による総ビリルビン測定法全体、ジアゾ法の収束は困難であると推察できる結果となった。

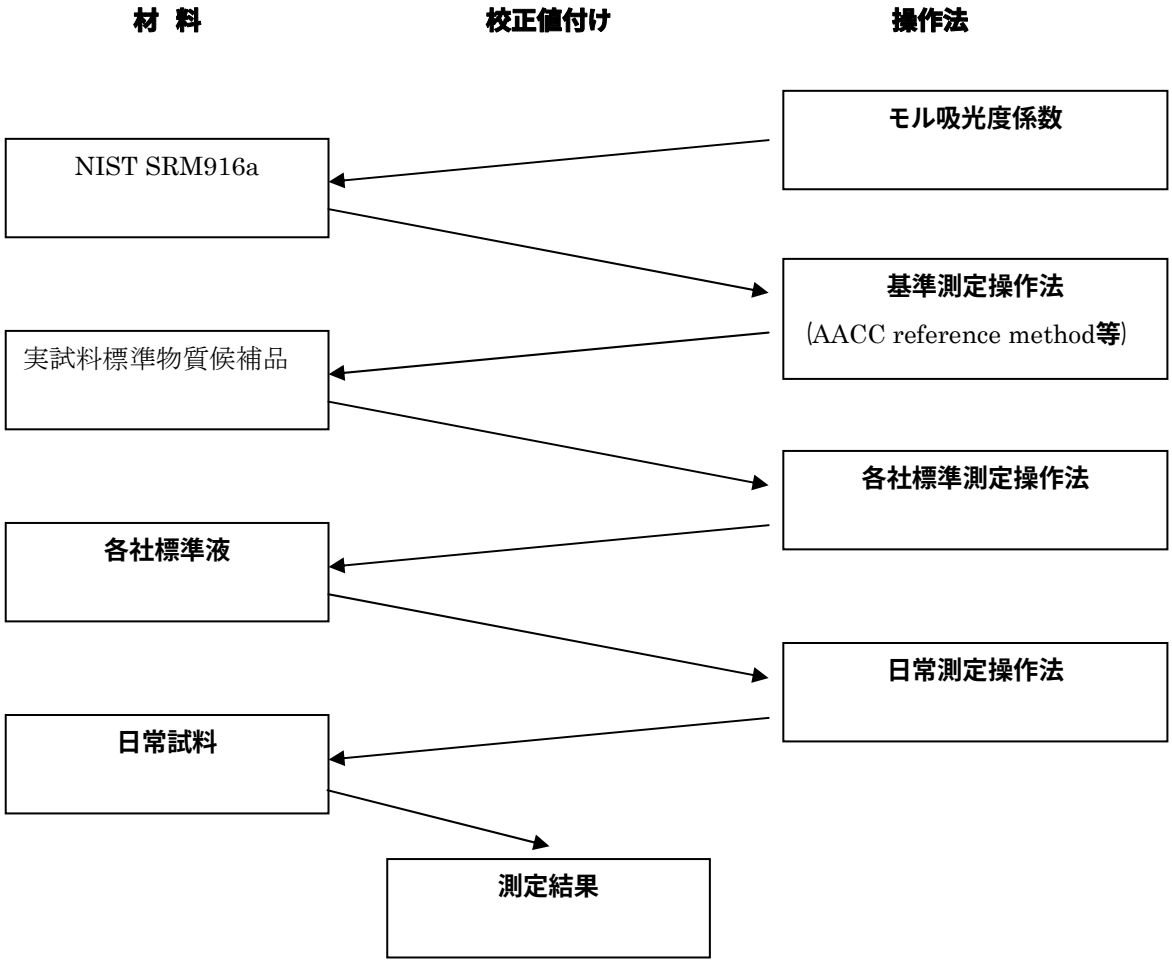
５．実試料標準物質の作製プロトコル

５－１トレーサビリティ連鎖

SI 単位系を最上位に位置づける体系とした。

ビリルビン純品を SI 単位にトレーサブルとする基準分析法については現在のところ知られていない。又、血清中のビリルビンを測定する実用基準法についても、国際的に認められた方法は確立されていない。

今回の研究においては、NIST(National Institute of Standards and Technology)より世界で唯一供給されている標準物質 SRM916a(Bilirubin:98.3%±0.3%)を高位標準物質として位置付けることとした。この SRM916a の純度(認証値)は不純物を信頼のおける方法により測定し、いわゆる差数法により求められたものであるが、この不純物測定の信頼性は極めて高い。この SRM916a を一定規格内を満たす血清に添加した。原料血清にも内因性のビリルビンが含まれているが、これを完全に除去することは困難なため、それを 0.1 mg/dL 以下に規定し、後に標準添加法によってブランクを確定した。SRM916a 添加量にこのブランクを加えたものを表示値とした。



５－２試料の性状規格

(1)実試料標準物質候補品

ベース：ヒト血清

BSA 添加水溶性ベース

BSA および安定化剤 EDTA･2Na 添加水溶性ベース

上記 3 種類をベースとして NIST の公的標準 SRM 916a を用い、HECTEF SRC にて添加調製。凍結品（-70℃以下）。

濃度 3 ポイントで、おおよその濃度範囲は以下の通り。

レベル 1：約 5 mg/dL

レベル 2：約 10 mg/dL

レベル 3：約 15 mg/dL

血清ベースの場合の規格は以下の通り。

密度　1.024 g/cm^3（25 ℃）とする。

粘性率　1.6 mPa・s（20 ℃）とする。

水分量　0.928 kg/L（25 ℃）とする。

pH　7.6（37℃）とする。

感染性　HBs 抗原陰性、HCV 抗体及び HIV 抗体不検出のもの。

5 mL のバイアル瓶（遮光）に、調製した試料を 1 mL ずつ充填し、直ちに－70 ℃以下に急速凍結して保存する。

５－３値付けの方法

SRM916a を一定規格内の血清または作成した水溶性ベースに添加した。原料血清にも内因性ビリルビンが含まれているが、これを完全に除去することは困難なため、それを 0.1mg/dL 以下に規定し、後に標準添加法によってブランクを確定した。SRM916a 添加量にこのブランクを加えたものを表示値とした。

６．今後の課題

昨年度の収束性が再検証されず、実試料標準物質候補品を用いても、ジアゾ法・全測定法に関しては現状の各社キャリブレーターによる測定値以上に収束させることはできない結果となった。今回の結果（特にジアゾ法）からは試薬とキャリブレーターの各社独自組み合わせにより、現状の試薬間差まで収束を引き上げていると考えられ、一律共通の標準物質を用いることで却ってその組み合わせを崩し、試薬間差を広げると推察される。昨年度および今年度の結果から、市販の総ビリルビン測定法には標準物質による較正の問題だけでなく、測定法間、さらには同一方法でも試薬のメーカー間差が存在すると考えられる。全体より 3 ないし 4 法を除くとかなり収束が予想され、これら方法の変更で収束する可能性があるが、国際的にも基準分析法が確立していない現時点において是正の根拠がなく、困難である。

H19 年度は今回調製した実試料標準物質候補品が収束効果を示すことを期待し、安定性評価を行う予定であったが、保留とする。

７．結び

本年度は 3 組成の実試料標準物質候補品を調製し、総ビリルビン値の収束を検討したが、収束を示さなかった。現状の市販試薬に対して収束効果のある、ビリルビン標品・組成を見出すことができなかった。

８．謝辞

検討に必要な試料のご提供とご助言を戴いた昭和大学病院臨床検査部　高木康教授に深謝致します。

添付資料

別紙１～１０

別紙.1

血清総ビリルビン　実試料標準物質候補品および実検体　測定値　（全測定法）

（実試料は値の小さい順に並べなおした。）

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-1	10-2	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー			A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社1	J社2	K社						
方法			ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	ジアゾ	化学酸化	ジアゾ	ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	化学酸化						
形式			ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
キャリブレータ濃度		No.	8.29	11.5	6.65		0.93、9.96、21.57	9.25		9.35	10	11.3	5.48	12.5						
実試料標準物質候補品・測定値	血清	1	5.02	5.52	5.08	4.99	5.37	5.74	4.62	5.46	5.34	5.52	5.67	5.15	5.29	4.62	5.74	1.12	0.326	6.2
	ﾍﾞｰｽ	2	10.06	10.89	9.89	10.53	10.64	11.29	9.34	10.75	10.48	11.01	11.21	10.25	10.53	9.34	11.29	1.95	0.572	5.4
		3	14.16	16.17	14.68	15.82	15.78	16.86	14.60	15.89	15.67	16.31	16.71	15.59	15.69	14.16	16.86	2.70	0.834	5.3
	水溶性	1	4.30	5.07	4.56	4.58	4.95	5.20	4.04	4.59	4.89	5.13	5.25	5.02	4.80	4.04	5.25	1.21	0.383	8.0
	ﾍﾞｰｽ	2	9.50	10.23	9.18	9.74	9.91	10.46	8.08	9.40	9.84	10.26	10.58	9.72	9.74	8.08	10.58	2.50	0.676	6.9
	BSA含有	3	14.48	15.36	13.84	15.02	14.90	15.99	12.34	14.36	14.75	15.15	15.42	14.61	14.69	12.34	15.99	3.65	0.926	6.3
	水溶性	1	4.32	5.06	4.81	4.62	4.94	4.85	4.02	4.60	4.87	5.05	5.25	4.78	4.76	4.02	5.25	1.23	0.338	7.1
	ﾍﾞｰｽ	2	9.76	10.16	9.65	9.82	9.90	10.55	8.08	9.35	9.83	10.19	10.44	9.60	9.78	8.08	10.55	2.47	0.640	6.5
	BSA+EDTA	3	13.98	15.27	14.50	15.04	14.77	15.97	12.44	14.39	14.85	15.02	15.41	14.54	14.68	12.44	15.97	3.53	0.879	6.0
実検体		22	0.26	0.31	0.27	0.17	0.26	0.43	0.32	0.64	0.29	0.24	0.35	0.23	0.32	0.17	0.64	0.47	0.122	38.3
		1	0.40	0.53	0.46	0.29	0.40	0.73	0.46	0.76	0.50	0.44	0.49	0.42	0.50	0.29	0.76	0.47	0.133	26.8
		17	0.52	0.73	0.69	0.51	0.62	0.93	0.66	1.14	0.69	0.63	0.71	0.62	0.72	0.51	1.14	0.63	0.174	24.2
		15	0.90	1.00	0.94	0.78	0.86	1.16	0.94	1.27	0.92	0.88	1.00	0.85	0.96	0.78	1.27	0.48	0.136	14.1
		13	1.06	1.15	1.13	0.98	1.03	1.33	1.18	1.35	1.08	1.03	1.16	1.01	1.13	0.98	1.35	0.37	0.119	10.6
		11	1.30	1.35	1.35	1.23	1.25	1.54	1.40	1.47	1.28	1.23	1.43	1.23	1.34	1.23	1.54	0.31	0.104	7.7
		8	1.78	1.78	1.81	1.67	1.70	1.97	1.84	1.92	1.70	1.66	1.94	1.67	1.79	1.66	1.97	0.30	0.110	6.2
		6	1.86	1.99	1.92	1.79	1.77	2.13	2.00	2.06	1.83	1.76	2.08	1.78	1.92	1.76	2.13	0.37	0.133	6.9
		4	2.14	2.16	2.11	2.09	2.03	2.34	2.18	2.40	2.03	2.07	2.23	1.97	2.14	1.97	2.40	0.43	0.129	6.0
		3	2.38	2.45	2.35	2.23	2.28	2.60	2.42	2.57	2.24	2.30	2.63	2.20	2.39	2.20	2.63	0.43	0.150	6.3
		23	2.86	2.84	2.77	2.71	2.75	3.05	2.82	3.02	2.69	2.75	3.11	2.64	2.83	2.64	3.11	0.46	0.149	5.3
		19	3.58	3.48	3.39	3.34	3.33	3.71	3.30	3.65	3.32	3.44	3.73	3.25	3.45	3.25	3.73	0.47	0.167	4.8
		21	4.18	4.17	3.96	3.95	3.90	4.35	3.86	4.27	3.93	3.99	4.38	3.84	4.05	3.84	4.38	0.54	0.194	4.8
		20	5.06	4.77	4.58	4.57	4.54	4.94	4.52	4.89	4.57	4.71	5.14	4.44	4.70	4.44	5.14	0.70	0.232	4.9
		5	6.56	5.98	5.71	5.78	5.57	6.21	5.72	5.90	5.70	5.86	6.34	5.56	5.85	5.56	6.56	1.00	0.314	5.4
		7	7.50	7.12	6.67	6.70	6.78	7.20	6.56	6.93	6.67	6.89	7.46	6.71	6.88	6.56	7.50	0.94	0.318	4.6
		18	7.92	7.48	7.26	7.25	7.26	7.82	7.16	7.71	7.26	7.51	8.15	7.17	7.46	7.16	8.15	0.99	0.330	4.4
		16	8.98	8.47	8.10	8.17	8.28	8.70	8.08	8.67	8.21	8.42	9.24	8.23	8.41	8.08	9.24	1.16	0.367	4.4
		14	9.94	9.42	8.99	9.23	8.93	9.75	8.82	9.25	9.09	9.40	10.13	8.89	9.26	8.82	10.13	1.31	0.427	4.6
		12	10.78	10.41	9.95	10.56	9.96	10.82	10.06	10.32	10.13	10.41	11.28	10.02	10.36	9.95	11.28	1.33	0.411	4.0
		10	11.84	11.62	11.10	11.81	10.88	12.01	11.40	11.62	11.39	11.68	12.38	11.13	11.55	10.88	12.38	1.49	0.421	3.6
		9	13.96	13.91	13.14	14.23	13.07	14.44	13.68	13.28	13.56	13.89	14.58	13.28	13.73	13.07	14.58	1.51	0.504	3.7
		25	15.66	15.82	14.96	16.19	15.24	16.43	16.02	15.65	15.67	15.90	16.81	15.23	15.81	14.96	16.81	1.84	0.524	3.3
		2	19.72	19.58	18.53	19.57	18.72	20.38	20.42	19.46	19.50	19.54	20.47	16.59	19.34	16.59	20.47	3.89	1.065	5.5
		24	23.68	23.41	22.03	22.53	22.83	23.82	23.94	23.45	23.21	23.48	25.25	22.55	23.32	22.03	25.25	3.22	0.834	3.6
															(mg/dL)					(%)

別紙2

血清総ビリルビン　実試料標準物質候補品および実検体 測定値 (酸化法)

(実試料は値の小さい順に並べなおした。)

			2	3	6	9	10-1	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー			B社	C社	F社	I社	J社1	K社						
方法			酵素	酵素	化学酸化	酵素	酵素	化学酸化						
形式			自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
キャリブレータ濃度		No.	11.5	6.65	9.25	10	11.3	12.5						
実試料標準物質候補品・測定値	血清	1	5.52	5.08	5.74	5.34	5.52	5.15	5.39	5.08	5.74	0.65	0.248	4.6
	ﾍﾟｰｽ	2	10.89	9.89	11.29	10.48	11.01	10.25	10.64	9.89	11.29	1.40	0.522	4.9
		3	16.17	14.68	16.86	15.67	16.31	15.59	15.88	14.68	16.86	2.18	0.747	4.7
	水溶性	1	5.07	4.56	5.20	4.89	5.13	5.02	4.98	4.56	5.20	0.65	0.232	4.7
	ﾍﾟｰｽ	2	10.23	9.18	10.46	9.84	10.26	9.72	9.95	9.18	10.46	1.28	0.467	4.7
	BSA含有	3	15.36	13.84	15.99	14.75	15.15	14.61	14.95	13.84	15.99	2.15	0.731	4.9
	水溶性	1	5.06	4.81	4.85	4.87	5.05	4.78	4.90	4.78	5.06	0.28	0.122	2.5
	ﾍﾟｰｽ	2	10.16	9.65	10.55	9.83	10.19	9.60	10.00	9.60	10.55	0.96	0.370	3.7
	BSA+EDTA	3	15.27	14.50	15.97	14.85	15.02	14.54	15.03	14.50	15.97	1.48	0.548	3.6
実検体		22	0.31	0.27	0.43	0.29	0.24	0.23	0.29	0.23	0.43	0.20	0.073	24.8
		1	0.53	0.46	0.73	0.50	0.44	0.42	0.51	0.42	0.73	0.31	0.113	22.1
		17	0.73	0.69	0.93	0.69	0.63	0.62	0.71	0.62	0.93	0.31	0.113	15.8
		15	1.00	0.94	1.16	0.92	0.88	0.85	0.96	0.85	1.16	0.31	0.112	11.7
		13	1.15	1.13	1.33	1.08	1.03	1.01	1.12	1.01	1.33	0.33	0.118	10.5
		11	1.35	1.35	1.54	1.28	1.23	1.23	1.33	1.23	1.54	0.31	0.118	8.8
		8	1.78	1.81	1.97	1.70	1.66	1.67	1.77	1.66	1.97	0.30	0.116	6.6
		6	1.99	1.92	2.13	1.83	1.76	1.78	1.90	1.76	2.13	0.37	0.142	7.5
		4	2.16	2.11	2.34	2.03	2.07	1.97	2.11	1.97	2.34	0.37	0.130	6.1
		3	2.45	2.35	2.60	2.24	2.30	2.20	2.36	2.20	2.60	0.41	0.151	6.4
		23	2.84	2.77	3.05	2.69	2.75	2.64	2.79	2.64	3.05	0.41	0.145	5.2
		19	3.48	3.39	3.71	3.32	3.44	3.25	3.43	3.25	3.71	0.46	0.159	4.6
		21	4.17	3.96	4.35	3.93	3.99	3.84	4.04	3.84	4.35	0.52	0.188	4.7
		20	4.77	4.58	4.94	4.57	4.71	4.44	4.67	4.44	4.94	0.50	0.177	3.8
		5	5.98	5.71	6.21	5.70	5.86	5.56	5.84	5.56	6.21	0.65	0.234	4.0
		7	7.12	6.67	7.20	6.67	6.89	6.71	6.88	6.67	7.20	0.53	0.235	3.4
		18	7.48	7.26	7.82	7.26	7.51	7.17	7.42	7.17	7.82	0.64	0.238	3.2
		16	8.47	8.10	8.70	8.21	8.42	8.23	8.36	8.10	8.70	0.60	0.217	2.6
		14	9.42	8.99	9.75	9.09	9.40	8.89	9.26	8.89	9.75	0.86	0.323	3.5
		12	10.41	9.95	10.82	10.13	10.41	10.02	10.29	9.95	10.82	0.87	0.323	3.1
		10	11.62	11.10	12.01	11.39	11.68	11.13	11.49	11.10	12.01	0.91	0.353	3.1
		9	13.91	13.14	14.44	13.56	13.89	13.28	13.70	13.14	14.44	1.30	0.477	3.5
		25	15.82	14.96	16.43	15.67	15.90	15.23	15.67	14.96	16.43	1.46	0.518	3.3
		2	19.58	18.53	20.38	19.50	19.54	16.59	19.02	16.59	20.38	3.79	1.328	7.0
		24	23.41	22.03	23.82	23.21	23.48	22.55	23.08	22.03	23.82	1.79	0.665	2.9

別紙.3

血清総ビリルビン　実試料標準物質候補品および実検体 測定値 (ジアゾ法)

(実試料は値の小さい順に並べなおした。)

			1	4	5	7	8	10-2	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー			A社	D社	E社	G社	H社	J社2						
方法			ジアゾ	ジアゾ	ジアゾ	ジアゾ	ジアゾ	ジアゾ						
形式			ドライ	ドライ	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析						
キャリブレータ濃度		No.	8.29		0.93、9.96、21.57		9.35	5.48						
実試料標準物質候補品・測定値	血清ベース	1	5.02	4.99	5.37	4.62	5.46	5.67	5.19	4.62	5.67	1.05	0.384	7.4
		2	10.06	10.53	10.64	9.34	10.75	11.21	10.42	9.34	11.21	1.87	0.647	6.2
		3	14.16	15.82	15.78	14.60	15.89	16.71	15.49	14.16	16.71	2.55	0.939	6.1
	水溶性ベース	1	4.30	4.58	4.95	4.04	4.59	5.25	4.62	4.04	5.25	1.21	0.436	9.4
		2	9.50	9.74	9.91	8.08	9.40	10.58	9.54	8.08	10.58	2.50	0.827	8.7
	BSA含有	3	14.48	15.02	14.90	12.34	14.36	15.42	14.42	12.34	15.42	3.08	1.088	7.5
	水溶性ベース	1	4.32	4.62	4.94	4.02	4.60	5.25	4.62	4.02	5.25	1.23	0.435	9.4
		2	9.76	9.82	9.90	8.08	9.35	10.44	9.56	8.08	10.44	2.36	0.805	8.4
	BSA+EDTA	3	13.98	15.04	14.77	12.44	14.39	15.41	14.34	12.44	15.41	2.97	1.056	7.4
実検体		22	0.26	0.17	0.26	0.32	0.64	0.35	0.35	0.17	0.64	0.47	0.162	46.9
		1	0.40	0.29	0.40	0.46	0.76	0.49	0.48	0.29	0.76	0.47	0.158	32.9
		17	0.52	0.51	0.62	0.66	1.14	0.71	0.73	0.51	1.14	0.63	0.232	31.9
		15	0.90	0.78	0.86	0.94	1.27	1.00	0.97	0.78	1.27	0.48	0.168	17.3
		13	1.06	0.98	1.03	1.18	1.35	1.16	1.14	0.98	1.35	0.37	0.133	11.6
		11	1.30	1.23	1.25	1.40	1.47	1.43	1.36	1.23	1.47	0.24	0.098	7.2
		8	1.78	1.67	1.70	1.84	1.92	1.94	1.81	1.67	1.94	0.27	0.111	6.1
		6	1.86	1.79	1.77	2.00	2.06	2.08	1.94	1.77	2.08	0.31	0.136	7.0
		4	2.14	2.09	2.03	2.18	2.40	2.23	2.18	2.03	2.40	0.38	0.131	6.0
		3	2.38	2.23	2.28	2.42	2.57	2.63	2.43	2.23	2.63	0.40	0.157	6.5
		23	2.86	2.71	2.75	2.82	3.02	3.11	2.88	2.71	3.11	0.39	0.154	5.4
		19	3.58	3.34	3.33	3.30	3.65	3.73	3.47	3.30	3.73	0.43	0.186	5.4
		21	4.18	3.95	3.90	3.86	4.27	4.38	4.07	3.86	4.38	0.52	0.215	5.3
		20	5.06	4.57	4.54	4.52	4.89	5.14	4.73	4.52	5.14	0.62	0.280	5.9
		5	6.56	5.78	5.57	5.72	5.90	6.34	5.86	5.57	6.56	0.99	0.388	6.6
		7	7.50	6.70	6.78	6.56	6.93	7.46	6.89	6.56	7.50	0.94	0.400	5.8
		18	7.92	7.25	7.26	7.16	7.71	8.15	7.50	7.16	8.15	0.99	0.411	5.5
		16	8.98	8.17	8.28	8.08	8.67	9.24	8.49	8.08	9.24	1.16	0.471	5.6
		14	9.94	9.23	8.93	8.82	9.25	10.13	9.27	8.82	10.13	1.31	0.535	5.8
		12	10.78	10.56	9.96	10.06	10.32	11.28	10.44	9.96	11.28	1.32	0.493	4.7
		10	11.84	11.81	10.88	11.40	11.62	12.38	11.62	10.88	12.38	1.49	0.499	4.3
		9	13.96	14.23	13.07	13.68	13.28	14.58	13.77	13.07	14.58	1.51	0.571	4.1
		25	15.66	16.19	15.24	16.02	15.65	16.81	15.98	15.24	16.81	1.56	0.542	3.4
		2	19.72	19.57	18.72	20.42	19.46	20.47	19.73	18.72	20.47	1.75	0.654	3.3
		24	23.68	22.53	22.83	23.94	23.45	25.25	23.60	22.53	25.25	2.72	0.959	4.1

別紙.4

血清総ビリルビン　回帰式による実検体補正値（全測定法）

（実試料は値の小さい順に並べなおした。）

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-1	10-2	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社1	J社2	K社						
方法		ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	ジアゾ	化学酸化	ジアゾ	ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	化学酸化						
形式	No.	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
実検体血清ﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.10	0.23	0.19	0.27	0.19	0.34	0.48	0.53	0.23	0.18	0.27	0.25	0.27	0.10	0.53	0.43	0.124	45.8
	1	0.25	0.44	0.39	0.39	0.33	0.60	0.62	0.64	0.43	0.36	0.40	0.43	0.44	0.25	0.64	0.39	0.120	27.4
	17	0.37	0.62	0.62	0.59	0.53	0.78	0.83	1.00	0.61	0.54	0.60	0.62	0.64	0.37	1.00	0.63	0.161	25.1
	15	0.77	0.87	0.88	0.85	0.77	0.99	1.12	1.12	0.83	0.76	0.86	0.85	0.89	0.76	1.12	0.36	0.124	14.0
	13	0.94	1.01	1.07	1.04	0.93	1.14	1.36	1.20	0.99	0.90	1.00	1.00	1.05	0.90	1.36	0.46	0.130	12.4
	11	1.19	1.20	1.29	1.28	1.14	1.33	1.59	1.31	1.18	1.08	1.24	1.21	1.25	1.08	1.59	0.51	0.129	10.3
	8	1.69	1.59	1.76	1.69	1.56	1.71	2.04	1.73	1.59	1.49	1.70	1.64	1.68	1.49	2.04	0.55	0.138	8.2
	6	1.78	1.79	1.87	1.81	1.63	1.85	2.21	1.87	1.71	1.58	1.83	1.75	1.81	1.58	2.21	0.63	0.156	8.7
	4	2.07	1.94	2.07	2.08	1.87	2.04	2.39	2.19	1.89	1.86	1.96	1.93	2.02	1.86	2.39	0.53	0.153	7.6
	3	2.32	2.22	2.32	2.22	2.12	2.27	2.64	2.35	2.10	2.07	2.32	2.15	2.26	2.07	2.64	0.57	0.154	6.8
	23	2.83	2.58	2.74	2.67	2.56	2.67	3.05	2.77	2.54	2.48	2.75	2.58	2.69	2.48	3.05	0.57	0.157	5.8
	19	3.58	3.17	3.38	3.26	3.11	3.26	3.55	3.37	3.13	3.12	3.30	3.17	3.28	3.11	3.58	0.47	0.160	4.9
	21	4.21	3.81	3.97	3.84	3.65	3.83	4.12	3.95	3.72	3.62	3.89	3.73	3.86	3.62	4.21	0.59	0.179	4.6
	20	5.14	4.37	4.60	4.42	4.26	4.35	4.80	4.54	4.33	4.29	4.57	4.31	4.50	4.26	5.14	0.88	0.257	5.7
	5	6.71	5.49	5.76	5.56	5.24	5.49	6.04	5.49	5.42	5.34	5.65	5.39	5.63	5.24	6.71	1.47	0.399	7.1
	7	7.70	6.55	6.74	6.43	6.39	6.37	6.90	6.47	6.35	6.28	6.66	6.50	6.61	6.28	7.70	1.42	0.386	5.8
	18	8.14	6.88	7.34	6.95	6.84	6.92	7.52	7.20	6.91	6.85	7.27	6.95	7.15	6.84	8.14	1.30	0.384	5.4
	16	9.25	7.80	8.20	7.81	7.81	7.70	8.47	8.10	7.83	7.69	8.25	7.97	8.07	7.69	9.25	1.56	0.443	5.5
	14	10.26	8.68	9.11	8.81	8.43	8.63	9.23	8.65	8.66	8.59	9.05	8.60	8.89	8.43	10.26	1.83	0.494	5.6
	12	11.14	9.60	10.09	10.07	9.41	9.59	10.51	9.66	9.67	9.51	10.09	9.68	9.92	9.41	11.14	1.73	0.499	5.0
	10	12.26	10.73	11.27	11.25	10.29	10.65	11.89	10.89	10.87	10.68	11.07	10.75	11.05	10.29	12.26	1.97	0.555	5.0
	9	14.48	12.85	13.36	13.53	12.37	12.81	14.23	12.46	12.95	12.71	13.05	12.83	13.14	12.37	14.48	2.11	0.658	5.0
	25	16.27	14.62	15.22	15.38	14.43	14.59	16.64	14.69	14.98	14.56	15.05	14.71	15.10	14.43	16.64	2.21	0.701	4.6
	2	20.53	18.10	18.88	18.56	17.74	18.11	21.17	18.29	18.65	17.90	18.34	16.02	18.52	16.02	21.17	5.15	1.310	7.1
	24	24.69	21.66	22.46	21.36	21.65	21.17	24.80	22.05	22.20	21.52	22.63	21.77	22.33	21.17	24.80	3.63	1.208	5.4
実検体BSAﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.51	0.32	0.32	0.37	0.27	0.47	0.44	0.77	0.30	0.19	0.27	0.18	0.37	0.18	0.77	0.59	0.163	44.4
	1	0.65	0.54	0.53	0.49	0.42	0.75	0.61	0.89	0.51	0.39	0.41	0.37	0.55	0.37	0.89	0.52	0.156	28.6
	17	0.78	0.73	0.78	0.71	0.63	0.94	0.86	1.29	0.71	0.58	0.62	0.58	0.77	0.58	1.29	0.71	0.198	25.8
	15	1.17	1.00	1.05	0.98	0.88	1.16	1.20	1.43	0.94	0.82	0.90	0.81	1.03	0.81	1.43	0.62	0.183	17.8
	13	1.33	1.14	1.25	1.18	1.05	1.32	1.49	1.51	1.11	0.97	1.05	0.98	1.20	0.97	1.51	0.54	0.184	15.4
	11	1.58	1.34	1.49	1.43	1.27	1.52	1.76	1.64	1.31	1.17	1.31	1.21	1.42	1.17	1.76	0.59	0.182	12.8
	8	2.07	1.76	1.99	1.87	1.72	1.92	2.30	2.10	1.74	1.60	1.81	1.66	1.88	1.60	2.30	0.70	0.206	11.0
	6	2.15	1.96	2.11	1.99	1.79	2.07	2.49	2.25	1.87	1.70	1.95	1.78	2.01	1.70	2.49	0.79	0.223	11.1
	4	2.44	2.12	2.31	2.28	2.05	2.27	2.71	2.61	2.07	2.00	2.09	1.97	2.24	1.97	2.71	0.74	0.241	10.7
	3	2.69	2.41	2.58	2.42	2.31	2.51	3.00	2.79	2.28	2.23	2.48	2.20	2.49	2.20	3.00	0.80	0.241	9.7
	23	3.18	2.79	3.03	2.90	2.77	2.94	3.49	3.25	2.75	2.67	2.94	2.66	2.95	2.66	3.49	0.83	0.253	8.6
	19	3.92	3.42	3.70	3.53	3.36	3.55	4.07	3.91	3.38	3.36	3.54	3.29	3.59	3.29	4.07	0.78	0.258	7.2
	21	4.53	4.09	4.33	4.13	3.93	4.16	4.75	4.55	4.00	3.90	4.17	3.89	4.20	3.89	4.75	0.86	0.281	6.7
	20	5.44	4.67	4.99	4.75	4.58	4.70	5.56	5.21	4.65	4.61	4.91	4.51	4.88	4.51	5.56	1.05	0.350	7.2
	5	6.98	5.86	6.22	5.95	5.62	5.90	7.02	6.26	5.80	5.75	6.08	5.67	6.09	5.62	7.02	1.40	0.468	7.7
	7	7.94	6.97	7.26	6.87	6.83	6.83	8.04	7.34	6.79	6.76	7.16	6.85	7.14	6.76	8.04	1.28	0.442	6.2
	18	8.37	7.32	7.90	7.41	7.31	7.41	8.77	8.15	7.38	7.37	7.82	7.33	7.71	7.31	8.77	1.46	0.492	6.4
	16	9.46	8.28	8.81	8.33	8.34	8.24	9.89	9.15	8.36	8.28	8.88	8.42	8.70	8.24	9.89	1.65	0.545	6.3
	14	10.45	9.21	9.77	9.38	9.00	9.22	10.79	9.75	9.25	9.24	9.74	9.09	9.57	9.00	10.79	1.79	0.557	5.8
	12	11.31	10.18	10.81	10.71	10.03	10.23	12.30	10.87	10.31	10.24	10.86	10.26	10.68	10.03	12.30	2.27	0.639	6.0
	10	12.40	11.36	12.05	11.95	10.97	11.35	13.93	12.23	11.58	11.50	11.92	11.40	11.89	10.97	13.93	2.96	0.767	6.5
	9	14.57	13.60	14.27	14.36	13.17	13.63	16.71	13.96	13.79	13.68	14.05	13.62	14.12	13.17	16.71	3.54	0.904	6.4
	25	16.32	15.46	16.25	16.31	15.36	15.50	19.56	16.43	15.94	15.66	16.21	15.62	16.22	15.36	19.56	4.20	1.120	6.9
	2	20.48	19.12	20.11	19.67	18.86	19.21	24.92	20.41	19.83	19.26	19.76	17.02	19.89	17.02	24.92	7.90	1.829	9.2
	24	24.55	22.86	23.91	22.61	23.00	22.45	29.20	24.57	23.60	23.15	24.39	23.16	23.95	22.45	29.20	6.75	1.810	7.6
実検体BSA＋EDTAﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.39	0.32	0.29	0.35	0.25	0.59	0.48	0.78	0.33	0.20	0.28	0.28	0.38	0.20	0.78	0.58	0.165	43.5
	1	0.54	0.54	0.49	0.47	0.40	0.87	0.65	0.90	0.54	0.40	0.42	0.47	0.56	0.40	0.90	0.50	0.169	30.2
	17	0.66	0.74	0.72	0.69	0.62	1.06	0.89	1.30	0.74	0.60	0.63	0.67	0.78	0.60	1.30	0.70	0.209	27.0
	15	1.06	1.00	0.99	0.96	0.87	1.27	1.23	1.43	0.97	0.84	0.92	0.91	1.04	0.84	1.43	0.59	0.180	17.4
	13	1.23	1.14	1.18	1.16	1.04	1.44	1.52	1.52	1.13	0.99	1.07	1.08	1.21	0.99	1.52	0.53	0.184	15.3
	11	1.48	1.35	1.41	1.41	1.26	1.63	1.78	1.65	1.33	1.19	1.33	1.31	1.43	1.19	1.78	0.59	0.176	12.3
	8	1.99	1.77	1.88	1.85	1.71	2.03	2.31	2.11	1.76	1.62	1.83	1.76	1.89	1.62	2.31	0.69	0.194	10.3
	6	2.07	1.97	1.99	1.97	1.79	2.18	2.51	2.26	1.89	1.72	1.97	1.88	2.02	1.72	2.51	0.79	0.216	10.7
	4	2.37	2.13	2.19	2.26	2.05	2.38	2.72	2.62	2.09	2.03	2.11	2.07	2.25	2.03	2.72	0.69	0.228	10.1
	3	2.62	2.42	2.44	2.40	2.30	2.62	3.01	2.79	2.30	2.25	2.50	2.30	2.50	2.25	3.01	0.76	0.229	9.2
	23	3.13	2.80	2.87	2.88	2.78	3.04	3.50	3.26	2.76	2.70	2.96	2.77	2.95	2.70	3.50	0.80	0.240	8.1
	19	3.88	3.43	3.52	3.50	3.37	3.65	4.08	3.92	3.39	3.39	3.56	3.40	3.59	3.37	4.08	0.71	0.241	6.7
	21	4.52	4.11	4.11	4.11	3.94	4.25	4.75	4.56	4.01	3.94	4.20	4.00	4.21	3.94	4.75	0.81	0.265	6.3
	20	5.44	4.70	4.75	4.72	4.60	4.79	5.55	5.22	4.65	4.66	4.94	4.62	4.89	4.60	5.55	0.95	0.332	6.8
	5	7.02	5.89	5.92	5.92	5.64	5.98	7.00	6.26	5.80	5.80	6.11	5.78	6.09	5.64	7.02	1.38	0.457	7.5
	7	8.01	7.01	6.91	6.84	6.86	6.90	8.01	7.34	6.78	6.82	7.19	6.96	7.14	6.78	8.01	1.23	0.439	6.1
	18	8.45	7.36	7.52	7.38	7.35	7.48	8.74	8.15	7.37	7.44	7.86	7.44	7.71	7.35	8.74	1.39	0.480	6.2
	16	9.57	8.33	8.39	8.29	8.39	8.30	9.85	9.15	8.33	8.35	8.92	8.54	8.70	8.29	9.85	1.56	0.545	6.3
	14	10.58	9.27	9.31	9.34	9.05	9.27	10.74	9.76	9.22	9.33	9.79	9.21	9.57	9.05	10.74	1.69	0.552	5.8
	12	11.46	10.23	10.30	10.67	10.09	10.27	12.24	10.87	10.27	10.33	10.91	10.37	10.67	10.09	12.24	2.15	0.631	5.9
	10	12.58	11.43	11.49	11.91	11.03	11.38	13.86	12.23	11.54	11.60	11.97	11.52	11.88	11.03	13.86	2.83	0.750	6.3
	9	14.81	13.67	13.60	14.31	13.25	13.64	16.61	13.96	13.73	13.79	14.11	13.74	14.10	13.25	16.61	3.36	0.884	6.3
	25	16.60	15.55	15.49	16.26	15.45	15.50	19.44	16.43	15.87	15.79	16.28	15.75	16.20	15.45	19.44	3.99	1.095	6.8
	2	20.87	19.23	19.18	19.61	18.99	19.18	24.75	20.40	19.74	19.42	19.84	17.15	19.86	17.15	24.75	7.60	1.782	9.0
	24	25.04	23.00	22.80	22.55	23.15	22.38	29.01	24.56	23.48	23.34	24.48	23.31	23.93	22.38	29.01	6.63	1.802	7.5

別紙5

血清総ビリルビン　各候補品濃度5mg/dLによる実検体補正値　(全測定法)

(実試料は値の小さい順に並べなおした。)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-1	10-2	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社1	J社2	K社						
方法		ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	ジアゾ	化学酸化	ジアゾ	ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	化学酸化						
形式	No.	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
実検体 血清ベースによる補正値	22	0.26	0.28	0.26	0.17	0.24	0.37	0.35	0.58	0.27	0.22	0.31	0.22	0.29	0.17	0.58	0.42	0.107	36.4
	1	0.40	0.48	0.46	0.29	0.38	0.63	0.50	0.69	0.46	0.40	0.43	0.40	0.46	0.29	0.69	0.40	0.110	24.0
	17	0.52	0.66	0.68	0.51	0.58	0.81	0.71	1.04	0.64	0.57	0.63	0.60	0.66	0.51	1.04	0.53	0.146	22.0
	15	0.90	0.91	0.93	0.79	0.80	1.01	1.02	1.16	0.86	0.79	0.88	0.82	0.91	0.79	1.16	0.37	0.111	12.2
	13	1.06	1.04	1.11	0.98	0.96	1.16	1.28	1.23	1.01	0.93	1.02	0.98	1.06	0.93	1.28	0.34	0.110	10.3
	11	1.29	1.23	1.33	1.24	1.17	1.34	1.52	1.35	1.20	1.11	1.26	1.19	1.27	1.11	1.52	0.40	0.107	8.4
	8	1.77	1.61	1.78	1.68	1.58	1.71	1.99	1.75	1.59	1.51	1.71	1.62	1.69	1.51	1.99	0.49	0.127	7.5
	6	1.85	1.81	1.88	1.80	1.65	1.86	2.16	1.88	1.72	1.60	1.83	1.73	1.81	1.60	2.16	0.57	0.144	7.9
	4	2.13	1.95	2.07	2.09	1.89	2.04	2.36	2.20	1.90	1.87	1.96	1.91	2.03	1.87	2.36	0.49	0.148	7.3
	3	2.37	2.22	2.31	2.24	2.12	2.27	2.62	2.35	2.09	2.08	2.32	2.13	2.26	2.08	2.62	0.54	0.152	6.7
	23	2.85	2.57	2.72	2.72	2.56	2.66	3.05	2.76	2.52	2.49	2.74	2.56	2.68	2.49	3.05	0.56	0.160	6.0
	19	3.57	3.15	3.34	3.35	3.10	3.23	3.57	3.34	3.11	3.12	3.28	3.16	3.28	3.10	3.57	0.47	0.165	5.1
	21	4.16	3.77	3.90	3.96	3.63	3.79	4.18	3.91	3.68	3.61	3.86	3.72	3.85	3.61	4.18	0.57	0.188	4.9
	20	5.04	4.32	4.50	4.58	4.23	4.30	4.89	4.48	4.27	4.27	4.53	4.30	4.48	4.23	5.04	0.81	0.259	5.8
	5	6.53	5.42	5.62	5.79	5.19	5.41	6.19	5.40	5.34	5.31	5.59	5.39	5.60	5.19	6.53	1.35	0.397	7.1
	7	7.47	6.45	6.56	6.72	6.31	6.28	7.10	6.35	6.25	6.23	6.58	6.51	6.57	6.23	7.47	1.24	0.376	5.7
	18	7.89	6.77	7.14	7.27	6.75	6.81	7.75	7.06	6.79	6.80	7.18	6.96	7.10	6.75	7.89	1.13	0.381	5.4
	16	8.94	7.67	7.97	8.19	7.70	7.58	8.74	7.93	7.69	7.62	8.14	7.99	8.01	7.58	8.94	1.36	0.439	5.5
	14	9.90	8.53	8.84	9.25	8.31	8.49	9.55	8.47	8.51	8.51	8.92	8.62	8.83	8.31	9.90	1.59	0.496	5.6
	12	10.74	9.42	9.79	10.59	9.27	9.43	10.89	9.45	9.49	9.42	9.94	9.72	9.84	9.27	10.89	1.62	0.574	5.8
	10	11.79	10.53	10.91	11.85	10.13	10.47	12.34	10.64	10.66	10.57	10.91	10.79	10.97	10.13	12.34	2.21	0.666	6.1
	9	13.90	12.60	12.92	14.27	12.17	12.58	14.81	12.16	12.69	12.57	12.85	12.89	13.03	12.16	14.81	2.64	0.839	6.4
	25	15.60	14.32	14.72	16.24	14.19	14.32	17.34	14.33	14.67	14.39	14.81	14.77	14.97	14.19	17.34	3.15	0.955	6.4
	2	19.64	17.73	18.23	19.62	17.43	17.76	22.10	17.81	18.25	17.68	18.04	16.09	18.37	16.09	22.10	6.01	1.505	8.2
	24	23.59	21.20	21.67	22.60	21.25	20.76	25.91	21.47	21.72	21.25	22.25	21.88	22.13	20.76	25.91	5.15	1.408	6.4
実検体 BSAベースによる補正値	22	0.30	0.30	0.30	0.18	0.26	0.41	0.40	0.69	0.30	0.23	0.33	0.23	0.33	0.18	0.69	0.51	0.133	40.6
	1	0.47	0.53	0.51	0.32	0.41	0.70	0.57	0.83	0.51	0.43	0.47	0.41	0.51	0.32	0.83	0.51	0.137	26.8
	17	0.60	0.72	0.76	0.55	0.62	0.89	0.82	1.24	0.70	0.62	0.68	0.61	0.73	0.55	1.24	0.69	0.186	25.3
	15	1.05	0.99	1.04	0.86	0.87	1.11	1.16	1.38	0.94	0.86	0.96	0.84	1.00	0.84	1.38	0.54	0.158	15.8
	13	1.23	1.13	1.24	1.07	1.04	1.28	1.46	1.47	1.10	1.00	1.10	1.00	1.18	1.00	1.47	0.46	0.161	13.7
	11	1.51	1.33	1.48	1.34	1.27	1.48	1.73	1.60	1.31	1.20	1.36	1.22	1.40	1.20	1.73	0.54	0.161	11.5
	8	2.07	1.76	1.98	1.83	1.72	1.89	2.28	2.09	1.74	1.62	1.85	1.66	1.87	1.62	2.28	0.65	0.197	10.5
	6	2.16	1.96	2.10	1.96	1.79	2.05	2.48	2.24	1.87	1.72	1.98	1.77	2.01	1.72	2.48	0.76	0.216	10.8
	4	2.49	2.13	2.31	2.28	2.05	2.25	2.70	2.62	2.07	2.02	2.12	1.96	2.25	1.96	2.70	0.73	0.241	10.7
	3	2.77	2.42	2.58	2.43	2.31	2.50	3.00	2.80	2.29	2.24	2.50	2.19	2.50	2.19	3.00	0.81	0.248	9.9
	23	3.33	2.80	3.04	2.96	2.77	2.93	3.49	3.29	2.75	2.68	2.96	2.63	2.97	2.63	3.49	0.86	0.272	9.2
	19	4.16	3.43	3.72	3.65	3.37	3.56	4.08	3.98	3.39	3.36	3.55	3.24	3.62	3.24	4.16	0.92	0.305	8.4
	21	4.86	4.11	4.35	4.31	3.94	4.18	4.78	4.65	4.01	3.89	4.16	3.82	4.26	3.82	4.86	1.04	0.347	8.2
	20	5.88	4.70	5.02	4.98	4.59	4.74	5.59	5.33	4.66	4.60	4.89	4.42	4.95	4.42	5.88	1.47	0.444	9.0
	5	7.63	5.90	6.27	6.31	5.63	5.97	7.08	6.42	5.83	5.72	6.04	5.54	6.19	5.54	7.63	2.09	0.617	10.0
	7	8.72	7.02	7.32	7.32	6.84	6.92	8.12	7.55	6.82	6.71	7.10	6.68	7.26	6.68	8.72	2.04	0.615	8.5
	18	9.21	7.37	7.97	7.91	7.33	7.51	8.86	8.40	7.41	7.32	7.75	7.14	7.85	7.14	9.21	2.07	0.660	8.4
	16	10.44	8.34	8.89	8.91	8.36	8.36	10.00	9.44	8.39	8.21	8.79	8.20	8.86	8.20	10.44	2.24	0.738	8.3
	14	11.56	9.28	9.86	10.07	9.02	9.36	10.92	10.08	9.28	9.17	9.64	8.85	9.76	8.85	11.56	2.71	0.805	8.3
	12	12.53	10.26	10.92	11.53	10.06	10.39	12.45	11.24	10.35	10.15	10.74	9.97	10.88	9.97	12.53	2.56	0.890	8.2
	10	13.77	11.45	12.18	12.90	10.99	11.54	14.11	12.66	11.63	11.39	11.78	11.08	12.12	10.99	14.11	3.12	1.027	8.5
	9	16.23	13.71	14.42	15.54	13.20	13.87	16.93	14.47	13.85	13.54	13.88	13.22	14.41	13.20	16.93	3.73	1.204	8.4
	25	18.21	15.59	16.42	17.68	15.40	15.78	19.83	17.05	16.01	15.50	15.99	15.16	16.55	15.16	19.83	4.67	1.398	8.4
	2	22.93	19.29	20.33	21.36	18.91	19.58	25.27	21.20	19.93	19.05	19.48	16.51	20.32	16.51	25.27	8.76	2.210	10.9
	24	27.53	23.07	24.18	24.60	23.06	22.89	29.63	25.54	23.71	22.89	24.03	22.45	24.47	22.45	29.63	7.18	2.154	8.8
実検体 BSA+EDTAベースによる補正値	22	0.30	0.27	0.28	0.18	0.25	0.39	0.43	0.64	0.28	0.21	0.29	0.23	0.31	0.18	0.64	0.46	0.123	39.4
	1	0.46	0.48	0.47	0.31	0.38	0.65	0.62	0.75	0.48	0.39	0.41	0.42	0.49	0.31	0.75	0.44	0.127	26.1
	17	0.60	0.66	0.70	0.55	0.58	0.83	0.89	1.13	0.66	0.57	0.60	0.63	0.70	0.55	1.13	0.58	0.171	24.5
	15	1.04	0.90	0.97	0.85	0.81	1.04	1.27	1.26	0.88	0.79	0.84	0.86	0.96	0.79	1.27	0.48	0.164	17.1
	13	1.22	1.03	1.15	1.06	0.97	1.20	1.59	1.34	1.04	0.92	0.97	1.02	1.13	0.92	1.59	0.67	0.190	16.8
	11	1.50	1.21	1.38	1.34	1.18	1.39	1.88	1.46	1.23	1.10	1.20	1.25	1.34	1.10	1.88	0.78	0.209	15.6
	8	2.05	1.60	1.85	1.82	1.60	1.77	2.48	1.91	1.64	1.49	1.63	1.69	1.79	1.49	2.48	0.99	0.266	14.8
	6	2.14	1.79	1.96	1.95	1.67	1.92	2.69	2.05	1.76	1.58	1.75	1.81	1.92	1.58	2.69	1.11	0.290	15.1
	4	2.47	1.93	2.16	2.26	1.91	2.10	2.93	2.39	1.95	1.85	1.87	2.00	2.15	1.85	2.93	1.08	0.320	14.9
	3	2.74	2.20	2.41	2.42	2.15	2.34	3.26	2.56	2.15	2.06	2.21	2.23	2.39	2.06	3.26	1.20	0.335	14.0
	23	3.30	2.54	2.83	2.95	2.59	2.74	3.80	3.00	2.59	2.46	2.61	2.68	2.84	2.46	3.80	1.33	0.382	13.4
	19	4.13	3.12	3.47	3.63	3.14	3.33	4.44	3.63	3.19	3.08	3.13	3.30	3.47	3.08	4.44	1.36	0.432	12.5
	21	4.82	3.73	4.05	4.29	3.67	3.91	5.20	4.25	3.78	3.57	3.67	3.89	4.07	3.57	5.20	1.62	0.498	12.2
	20	5.83	4.27	4.68	4.96	4.28	4.44	6.08	4.87	4.39	4.22	4.32	4.50	4.74	4.22	6.08	1.86	0.620	13.1
	5	7.56	5.36	5.84	6.27	5.25	5.58	7.70	5.87	5.48	5.25	5.33	5.64	5.93	5.25	7.70	2.45	0.850	14.3
	7	8.65	6.38	6.82	7.28	6.39	6.47	8.83	6.91	6.42	6.17	6.26	6.81	6.95	6.17	8.83	2.66	0.894	12.9
	18	9.13	6.70	7.43	7.87	6.84	7.03	9.64	7.68	6.98	6.72	6.84	7.28	7.51	6.70	9.64	2.94	0.957	12.7
	16	10.35	7.58	8.28	8.87	7.80	7.82	10.88	8.63	7.90	7.54	7.75	8.36	8.48	7.54	10.88	3.33	1.084	12.8
	14	11.46	8.44	9.19	10.02	8.42	8.76	11.87	9.21	8.74	8.42	8.50	9.02	9.34	8.42	11.87	3.46	1.184	12.7
	12	12.43	9.32	10.18	11.47	9.39	9.72	13.54	10.28	9.74	9.32	9.47	10.16	10.42	9.32	13.54	4.22	1.360	13.1
	10	13.65	10.41	11.35	12.83	10.26	10.79	15.35	11.58	10.95	10.46	10.39	11.29	11.61	10.26	15.35	5.09	1.565	13.5
	9	16.09	12.46	13.44	15.45	12.32	12.98	18.41	13.23	13.03	12.44	12.24	13.48	13.80	12.24	18.41	6.17	1.892	13.7
	25	18.05	14.17	15.30	17.58	14.37	14.76	21.56	15.59	15.07	14.23	14.11	15.45	15.85	14.11	21.56	7.45	2.205	13.9
	2	22.73	17.53	18.95	21.25	17.65	18.32	27.49	19.38	18.75	17.49	17.19	16.83	19.46	16.83	27.49	10.66	3.065	15.7
	24	27.30	20.96	22.53	24.46	21.53	21.41	32.23	23.35	22.31	21.02	21.20	22.88	23.43	20.96	32.23	11.26	3.307	14.1

別紙.6

血清総ビリルビン　各候補品濃度10mg/dLによる実検体補正値 (全測定法)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-1	10-2	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社1	J社2	K社						
方法		ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	ジアゾ	化学酸化	ジアゾ	ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	化学酸化						
形式	No.	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
実検体 血清ﾍﾞｰｽによる 補正値	22	0.26	0.28	0.27	0.16	0.24	0.38	0.34	0.59	0.28	0.22	0.31	0.22	0.30	0.16	0.59	0.44	0.110	37.2
	1	0.40	0.49	0.47	0.28	0.38	0.64	0.49	0.70	0.47	0.40	0.44	0.41	0.46	0.28	0.70	0.43	0.116	24.9
	17	0.52	0.67	0.70	0.48	0.58	0.82	0.71	1.06	0.66	0.58	0.64	0.60	0.67	0.48	1.06	0.58	0.153	22.9
	15	0.89	0.92	0.95	0.74	0.81	1.03	1.01	1.18	0.88	0.80	0.90	0.83	0.91	0.74	1.18	0.43	0.119	13.0
	13	1.05	1.06	1.14	0.93	0.97	1.18	1.26	1.25	1.03	0.94	1.03	0.98	1.07	0.93	1.26	0.33	0.116	10.8
	11	1.29	1.24	1.36	1.17	1.18	1.37	1.50	1.37	1.22	1.12	1.27	1.20	1.27	1.12	1.50	0.38	0.109	8.6
	8	1.77	1.64	1.83	1.59	1.60	1.74	1.97	1.78	1.63	1.51	1.73	1.62	1.70	1.51	1.97	0.46	0.127	7.5
	6	1.85	1.83	1.94	1.70	1.67	1.89	2.14	1.91	1.75	1.60	1.86	1.74	1.82	1.60	2.14	0.54	0.144	7.9
	4	2.13	1.98	2.13	1.98	1.90	2.07	2.33	2.23	1.93	1.88	1.99	1.92	2.04	1.88	2.33	0.45	0.141	6.9
	3	2.37	2.25	2.38	2.12	2.14	2.31	2.59	2.39	2.14	2.09	2.34	2.14	2.27	2.09	2.59	0.50	0.152	6.7
	23	2.84	2.61	2.80	2.58	2.58	2.70	3.02	2.80	2.57	2.50	2.77	2.58	2.70	2.50	3.02	0.52	0.153	5.7
	19	3.56	3.19	3.43	3.17	3.13	3.28	3.53	3.39	3.17	3.13	3.32	3.17	3.29	3.13	3.56	0.43	0.155	4.7
	21	4.16	3.83	4.01	3.75	3.66	3.86	4.13	3.97	3.75	3.62	3.90	3.74	3.86	3.62	4.16	0.53	0.174	4.5
	20	5.03	4.38	4.63	4.34	4.27	4.37	4.84	4.55	4.36	4.28	4.58	4.33	4.50	4.27	5.03	0.76	0.240	5.3
	5	6.52	5.49	5.77	5.49	5.24	5.50	6.12	5.48	5.44	5.32	5.66	5.42	5.62	5.24	6.52	1.29	0.365	6.5
	7	7.46	6.54	6.74	6.37	6.37	6.38	7.02	6.45	6.37	6.25	6.66	6.54	6.59	6.25	7.46	1.20	0.343	5.2
	18	7.87	6.87	7.34	6.89	6.82	6.92	7.67	7.17	6.92	6.82	7.27	7.00	7.13	6.82	7.87	1.05	0.348	4.9
	16	8.93	7.77	8.19	7.76	7.78	7.70	8.65	8.06	7.84	7.65	8.24	8.03	8.05	7.65	8.93	1.28	0.399	5.0
	14	9.88	8.65	9.09	8.77	8.39	8.63	9.44	8.60	8.67	8.54	9.03	8.67	8.86	8.39	9.88	1.49	0.430	4.9
	12	10.72	9.55	10.06	10.03	9.36	9.58	10.77	9.59	9.67	9.45	10.06	9.77	9.88	9.36	10.77	1.41	0.464	4.7
	10	11.77	10.67	11.22	11.22	10.23	10.63	12.21	10.81	10.87	10.61	11.04	10.85	11.01	10.23	12.21	1.98	0.541	4.9
	9	13.88	12.77	13.28	13.52	12.28	12.78	14.65	12.35	12.94	12.61	13.00	12.95	13.08	12.28	14.65	2.36	0.669	5.1
	25	15.57	14.52	15.12	15.38	14.32	14.55	17.15	14.55	14.96	14.44	14.99	14.85	15.03	14.32	17.15	2.83	0.771	5.1
	2	19.60	17.97	18.73	18.59	17.59	18.04	21.86	18.09	18.61	17.74	18.26	16.18	18.44	16.18	21.86	5.69	1.351	7.3
	24	23.54	21.49	22.27	21.40	21.45	21.09	25.63	21.81	22.15	21.32	22.52	21.99	22.22	21.09	25.63	4.54	1.264	5.7
実検体 BSAﾍﾞｰｽによる 補正値	22	0.27	0.30	0.29	0.17	0.26	0.41	0.40	0.68	0.30	0.23	0.33	0.24	0.32	0.17	0.68	0.51	0.130	40.4
	1	0.42	0.52	0.51	0.30	0.41	0.70	0.57	0.81	0.50	0.43	0.46	0.43	0.50	0.30	0.81	0.51	0.136	27.0
	17	0.55	0.72	0.75	0.52	0.62	0.89	0.82	1.21	0.70	0.62	0.67	0.63	0.72	0.52	1.21	0.69	0.185	25.5
	15	0.95	0.98	1.03	0.80	0.87	1.11	1.16	1.35	0.93	0.86	0.95	0.87	0.99	0.80	1.35	0.54	0.154	15.6
	13	1.12	1.12	1.23	1.01	1.04	1.28	1.46	1.43	1.10	1.00	1.10	1.04	1.16	1.00	1.46	0.46	0.157	13.6
	11	1.37	1.32	1.47	1.26	1.26	1.47	1.73	1.56	1.30	1.20	1.35	1.26	1.38	1.20	1.73	0.54	0.154	11.1
	8	1.87	1.74	1.97	1.72	1.71	1.88	2.28	2.04	1.73	1.62	1.84	1.71	1.84	1.62	2.28	0.65	0.182	9.9
	6	1.96	1.95	2.09	1.84	1.79	2.04	2.48	2.19	1.86	1.72	1.97	1.83	1.98	1.72	2.48	0.76	0.205	10.4
	4	2.25	2.11	2.30	2.14	2.04	2.24	2.70	2.55	2.06	2.02	2.10	2.03	2.21	2.02	2.70	0.68	0.216	9.8
	3	2.51	2.40	2.56	2.29	2.30	2.49	3.00	2.74	2.27	2.24	2.48	2.26	2.46	2.24	3.00	0.75	0.225	9.1
	23	3.01	2.78	3.01	2.79	2.77	2.92	3.49	3.21	2.74	2.68	2.93	2.72	2.92	2.68	3.49	0.81	0.237	8.1
	19	3.77	3.40	3.69	3.43	3.36	3.55	4.08	3.88	3.37	3.36	3.52	3.35	3.56	3.35	4.08	0.74	0.242	6.8
	21	4.40	4.07	4.32	4.06	3.93	4.16	4.78	4.54	3.99	3.89	4.13	3.95	4.18	3.89	4.78	0.89	0.273	6.5
	20	5.33	4.66	4.99	4.69	4.58	4.72	5.59	5.21	4.64	4.60	4.86	4.56	4.87	4.56	5.59	1.03	0.339	7.0
	5	6.91	5.85	6.22	5.93	5.62	5.94	7.08	6.27	5.80	5.72	5.99	5.72	6.09	5.62	7.08	1.46	0.467	7.7
	7	7.89	6.96	7.27	6.88	6.83	6.89	8.12	7.38	6.78	6.71	7.05	6.90	7.14	6.71	8.12	1.40	0.450	6.3
	18	8.34	7.31	7.91	7.44	7.32	7.47	8.86	8.20	7.37	7.32	7.70	7.38	7.72	7.31	8.86	1.55	0.506	6.6
	16	9.45	8.28	8.82	8.38	8.35	8.32	10.00	9.22	8.35	8.21	8.73	8.47	8.71	8.21	10.00	1.79	0.565	6.5
	14	10.46	9.21	9.79	9.47	9.01	9.32	10.92	9.84	9.24	9.17	9.57	9.14	9.59	9.01	10.92	1.91	0.580	6.0
	12	11.35	10.17	10.84	10.84	10.04	10.34	12.45	10.97	10.30	10.15	10.66	10.30	10.70	10.04	12.45	2.41	0.678	6.3
	10	12.46	11.36	12.09	12.12	10.98	11.48	14.11	12.36	11.57	11.39	11.69	11.44	11.92	10.98	14.11	3.13	0.822	6.9
	9	14.69	13.60	14.31	14.61	13.19	13.80	16.93	14.13	13.78	13.54	13.78	13.66	14.17	13.19	16.93	3.75	0.977	6.9
	25	16.48	15.46	16.30	16.62	15.37	15.71	19.83	16.65	15.93	15.50	15.88	15.66	16.28	15.37	19.83	4.45	1.205	7.4
	2	20.76	19.14	20.19	20.08	18.89	19.48	25.27	20.70	19.82	19.05	19.34	17.06	19.98	17.06	25.27	8.22	1.935	9.7
	24	24.93	22.88	24.01	23.12	23.03	22.77	29.63	24.94	23.59	22.89	23.86	23.19	24.07	22.77	29.63	6.85	1.905	7.9
実検体 BSA＋EDTAﾍﾞｰｽ による補正値	22	0.27	0.30	0.28	0.17	0.26	0.41	0.40	0.68	0.30	0.23	0.33	0.24	0.32	0.17	0.68	0.51	0.132	40.8
	1	0.41	0.53	0.48	0.30	0.41	0.69	0.57	0.81	0.50	0.43	0.47	0.43	0.50	0.30	0.81	0.52	0.137	27.3
	17	0.53	0.72	0.71	0.52	0.62	0.88	0.82	1.21	0.70	0.62	0.68	0.64	0.72	0.52	1.21	0.70	0.187	25.8
	15	0.92	0.99	0.98	0.80	0.87	1.10	1.16	1.36	0.93	0.86	0.96	0.88	0.98	0.80	1.36	0.56	0.154	15.7
	13	1.09	1.13	1.17	1.00	1.04	1.26	1.46	1.44	1.10	1.01	1.11	1.05	1.16	1.00	1.46	0.46	0.156	13.5
	11	1.33	1.33	1.40	1.25	1.27	1.46	1.73	1.57	1.30	1.20	1.37	1.28	1.38	1.20	1.73	0.53	0.150	10.9
	8	1.82	1.75	1.87	1.70	1.72	1.86	2.28	2.05	1.73	1.63	1.86	1.74	1.84	1.63	2.28	0.64	0.177	9.6
	6	1.91	1.96	1.99	1.83	1.79	2.02	2.48	2.20	1.86	1.73	1.99	1.86	1.97	1.73	2.48	0.74	0.202	10.3
	4	2.19	2.12	2.18	2.12	2.05	2.22	2.70	2.57	2.06	2.03	2.13	2.05	2.20	2.03	2.70	0.67	0.212	9.6
	3	2.44	2.41	2.44	2.27	2.30	2.47	3.00	2.75	2.28	2.25	2.52	2.29	2.45	2.25	3.00	0.74	0.222	9.1
	23	2.93	2.79	2.87	2.76	2.77	2.89	3.49	3.22	2.74	2.70	2.97	2.75	2.91	2.70	3.49	0.79	0.232	8.0
	19	3.67	3.42	3.51	3.40	3.36	3.52	4.08	3.90	3.37	3.38	3.57	3.39	3.55	3.36	4.08	0.72	0.230	6.5
	21	4.28	4.10	4.11	4.02	3.93	4.13	4.78	4.56	3.99	3.91	4.19	4.00	4.17	3.91	4.78	0.87	0.261	6.3
	20	5.18	4.69	4.74	4.65	4.59	4.68	5.59	5.23	4.64	4.62	4.92	4.62	4.85	4.59	5.59	1.01	0.322	6.6
	5	6.72	5.89	5.92	5.88	5.63	5.89	7.08	6.31	5.80	5.75	6.07	5.79	6.06	5.63	7.08	1.45	0.434	7.2
	7	7.68	7.01	6.92	6.82	6.84	6.82	8.12	7.41	6.79	6.75	7.14	6.99	7.11	6.75	8.12	1.36	0.423	6.0
	18	8.11	7.36	7.53	7.38	7.33	7.41	8.86	8.25	7.38	7.37	7.80	7.47	7.69	7.33	8.86	1.53	0.483	6.3
	16	9.20	8.33	8.39	8.32	8.36	8.24	10.00	9.27	8.35	8.26	8.84	8.58	8.68	8.24	10.00	1.76	0.548	6.3
	14	10.18	9.27	9.32	9.40	9.02	9.23	10.92	9.89	9.24	9.22	9.70	9.26	9.55	9.02	10.92	1.90	0.542	5.7
	12	11.05	10.24	10.31	10.76	10.06	10.25	12.45	11.03	10.31	10.21	10.80	10.44	10.66	10.06	12.45	2.39	0.656	6.2
	10	12.13	11.44	11.50	12.03	10.99	11.38	14.11	12.43	11.58	11.46	11.85	11.59	11.87	10.99	14.11	3.12	0.803	6.8
	9	14.30	13.69	13.62	14.49	13.20	13.68	16.93	14.20	13.79	13.62	13.96	13.84	14.11	13.20	16.93	3.73	0.954	6.8
	25	16.05	15.56	15.51	16.49	15.39	15.57	19.83	16.73	15.94	15.59	16.09	15.86	16.22	15.39	19.83	4.43	1.207	7.4
	2	20.20	19.26	19.21	19.93	18.91	19.31	25.27	20.81	19.84	19.16	19.60	17.28	19.90	17.28	25.27	7.99	1.895	9.5
	24	24.26	23.03	22.84	22.95	23.06	22.57	29.63	25.07	23.60	23.03	24.18	23.49	23.98	22.57	29.63	7.06	1.922	8.0

別紙.7

血清総ビリルビン　各候補品濃度15mg/dLによる実検体補正値 （全測定法）

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10-1	10-2	11	平均値	MIN.	MAX.	R	SD	CV%
担当メーカー		A社	B社	C社	D社	E社	F社	G社	H社	I社	J社1	J社2	K社						
方法		ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	ジアゾ	化学酸化	ジアゾ	ジアゾ	酵素	酵素	ジアゾ	化学酸化						
形式	No.	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	ドライ	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析	自動分析						
実検体血清ﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.28	0.28	0.28	0.16	0.25	0.38	0.33	0.60	0.28	0.22	0.31	0.22	0.30	0.16	0.60	0.44	0.112	37.4
	1	0.42	0.50	0.47	0.27	0.38	0.65	0.47	0.72	0.47	0.40	0.44	0.40	0.47	0.27	0.72	0.44	0.117	25.0
	17	0.55	0.68	0.70	0.48	0.59	0.83	0.68	1.07	0.66	0.58	0.64	0.59	0.67	0.48	1.07	0.59	0.153	22.9
	15	0.95	0.93	0.96	0.74	0.82	1.03	0.97	1.20	0.88	0.81	0.90	0.82	0.92	0.74	1.20	0.45	0.121	13.2
	13	1.12	1.07	1.15	0.93	0.98	1.19	1.21	1.27	1.03	0.95	1.04	0.97	1.08	0.93	1.27	0.34	0.112	10.4
	11	1.38	1.26	1.38	1.17	1.19	1.37	1.44	1.39	1.23	1.13	1.28	1.18	1.28	1.13	1.44	0.31	0.105	8.2
	8	1.89	1.65	1.85	1.59	1.62	1.75	1.89	1.81	1.63	1.53	1.74	1.60	1.71	1.53	1.89	0.36	0.125	7.3
	6	1.97	1.85	1.96	1.70	1.69	1.90	2.05	1.94	1.75	1.62	1.87	1.71	1.83	1.62	2.05	0.43	0.137	7.4
	4	2.27	2.00	2.15	1.98	1.93	2.08	2.24	2.27	1.94	1.90	2.00	1.90	2.05	1.90	2.27	0.37	0.143	7.0
	3	2.52	2.28	2.40	2.11	2.17	2.32	2.49	2.43	2.14	2.11	2.36	2.11	2.29	2.11	2.52	0.41	0.154	6.7
	23	3.03	2.63	2.83	2.57	2.61	2.72	2.90	2.85	2.58	2.53	2.79	2.54	2.71	2.53	3.03	0.50	0.162	6.0
	19	3.79	3.23	3.46	3.17	3.17	3.30	3.39	3.44	3.18	3.17	3.34	3.13	3.31	3.13	3.79	0.66	0.191	5.8
	21	4.43	3.87	4.05	3.75	3.70	3.87	3.97	4.03	3.76	3.67	3.93	3.69	3.89	3.67	4.43	0.76	0.214	5.5
	20	5.36	4.42	4.68	4.33	4.32	4.39	4.64	4.62	4.37	4.33	4.61	4.27	4.53	4.27	5.36	1.09	0.300	6.6
	5	6.95	5.55	5.84	5.48	5.30	5.53	5.88	5.57	5.46	5.39	5.69	5.35	5.66	5.30	6.95	1.65	0.443	7.8
	7	7.94	6.61	6.82	6.35	6.44	6.41	6.74	6.54	6.39	6.33	6.70	6.46	6.64	6.33	7.94	1.61	0.440	6.6
	18	8.39	6.94	7.42	6.87	6.90	6.96	7.36	7.28	6.94	6.90	7.31	6.90	7.18	6.87	8.39	1.52	0.434	6.0
	16	9.51	7.86	8.27	7.74	7.87	7.74	8.30	8.18	7.86	7.75	8.29	7.92	8.11	7.74	9.51	1.77	0.495	6.1
	14	10.53	8.74	9.18	8.75	8.49	8.67	9.06	8.73	8.70	8.64	9.09	8.55	8.93	8.49	10.53	2.04	0.549	6.2
	12	11.42	9.65	10.16	10.01	9.47	9.63	10.34	9.74	9.70	9.57	10.13	9.64	9.95	9.47	11.42	1.95	0.537	5.4
	10	12.54	10.78	11.34	11.20	10.35	10.69	11.71	10.97	10.90	10.74	11.11	10.70	11.09	10.35	12.54	2.20	0.580	5.2
	9	14.79	12.91	13.42	13.49	12.43	12.85	14.05	12.54	12.98	12.77	13.09	12.78	13.17	12.43	14.79	2.36	0.678	5.1
	25	16.59	14.68	15.29	15.35	14.49	14.62	16.46	14.77	15.00	14.62	15.08	14.65	15.13	14.49	16.59	2.10	0.706	4.7
	2	20.89	18.16	18.93	18.55	17.80	18.13	20.98	18.36	18.67	17.96	18.38	15.96	18.56	15.96	20.98	5.02	1.333	7.2
	24	25.08	21.71	22.51	21.36	21.71	21.20	24.60	22.13	22.22	21.59	22.66	21.70	22.37	21.20	25.08	3.89	1.238	5.5
実検体BSAﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.27	0.30	0.29	0.17	0.26	0.40	0.39	0.67	0.30	0.24	0.34	0.24	0.32	0.17	0.67	0.50	0.127	39.6
	1	0.41	0.52	0.50	0.29	0.41	0.68	0.56	0.79	0.50	0.44	0.48	0.43	0.50	0.29	0.79	0.50	0.132	26.4
	17	0.54	0.72	0.75	0.51	0.62	0.87	0.80	1.19	0.70	0.63	0.69	0.63	0.72	0.51	1.19	0.68	0.179	24.9
	15	0.93	0.98	1.02	0.78	0.87	1.09	1.14	1.32	0.93	0.87	0.98	0.87	0.98	0.78	1.32	0.54	0.147	15.0
	13	1.10	1.12	1.22	0.98	1.04	1.25	1.43	1.41	1.10	1.02	1.13	1.03	1.15	0.98	1.43	0.46	0.148	12.8
	11	1.35	1.32	1.46	1.23	1.26	1.45	1.70	1.54	1.30	1.22	1.39	1.26	1.37	1.22	1.70	0.49	0.143	10.4
	8	1.84	1.74	1.96	1.67	1.71	1.85	2.24	2.00	1.73	1.65	1.89	1.71	1.83	1.65	2.24	0.59	0.170	9.3
	6	1.93	1.95	2.08	1.79	1.79	2.00	2.43	2.15	1.86	1.75	2.03	1.83	1.96	1.75	2.43	0.69	0.193	9.8
	4	2.22	2.11	2.28	2.08	2.04	2.20	2.65	2.51	2.06	2.05	2.17	2.02	2.20	2.02	2.65	0.63	0.197	9.0
	3	2.47	2.40	2.55	2.23	2.30	2.44	2.94	2.69	2.28	2.27	2.56	2.25	2.45	2.23	2.94	0.71	0.212	8.7
	23	2.96	2.77	3.00	2.71	2.76	2.87	3.43	3.15	2.74	2.72	3.02	2.71	2.90	2.71	3.43	0.72	0.220	7.6
	19	3.71	3.40	3.68	3.34	3.35	3.48	4.01	3.81	3.37	3.41	3.62	3.34	3.54	3.34	4.01	0.67	0.220	6.2
	21	4.33	4.07	4.30	3.95	3.92	4.09	4.69	4.45	3.99	3.95	4.26	3.94	4.16	3.92	4.69	0.77	0.246	5.9
	20	5.24	4.66	4.96	4.56	4.57	4.63	5.49	5.11	4.64	4.67	5.00	4.55	4.84	4.55	5.49	0.94	0.313	6.5
	5	6.80	5.84	6.19	5.77	5.61	5.83	6.95	6.16	5.80	5.80	6.17	5.71	6.05	5.61	6.95	1.34	0.429	7.1
	7	7.77	6.96	7.23	6.69	6.82	6.76	7.97	7.24	6.79	6.82	7.26	6.89	7.10	6.69	7.97	1.28	0.413	5.8
	18	8.20	7.31	7.87	7.24	7.31	7.34	8.70	8.05	7.38	7.43	7.92	7.36	7.68	7.24	8.70	1.46	0.467	6.1
	16	9.30	8.27	8.78	8.16	8.33	8.16	9.82	9.05	8.35	8.34	8.98	8.45	8.67	8.16	9.82	1.67	0.525	6.1
	14	10.30	9.20	9.74	9.22	8.99	9.14	10.72	9.66	9.24	9.30	9.85	9.12	9.54	8.99	10.72	1.73	0.532	5.6
	12	11.17	10.17	10.78	10.55	10.03	10.15	12.23	10.77	10.31	10.30	10.97	10.28	10.64	10.03	12.23	2.20	0.615	5.8
	10	12.27	11.35	12.03	11.80	10.96	11.27	13.86	12.14	11.58	11.56	12.04	11.42	11.86	10.96	13.86	2.90	0.743	6.3
	9	14.46	13.59	14.24	14.21	13.16	13.55	16.63	13.87	13.79	13.75	14.18	13.63	14.09	13.16	16.63	3.47	0.879	6.2
	25	16.22	15.45	16.22	16.17	15.35	15.41	19.47	16.34	15.94	15.73	16.35	15.63	16.19	15.35	19.47	4.13	1.099	6.8
	2	20.43	19.12	20.09	19.55	18.85	19.12	24.82	20.32	19.83	19.34	19.92	17.02	19.87	17.02	24.82	7.80	1.802	9.1
	24	24.53	22.86	23.88	22.50	22.99	22.35	29.10	24.49	23.60	23.24	24.56	23.15	23.94	22.35	29.10	6.75	1.798	7.5
実検体BSA＋EDTAﾍﾞｰｽによる補正値	22	0.28	0.30	0.28	0.17	0.26	0.40	0.39	0.66	0.29	0.24	0.34	0.24	0.32	0.17	0.66	0.50	0.126	39.4
	1	0.43	0.52	0.48	0.29	0.41	0.68	0.55	0.79	0.50	0.44	0.48	0.43	0.50	0.29	0.79	0.50	0.131	26.1
	17	0.56	0.72	0.71	0.50	0.63	0.87	0.80	1.18	0.70	0.63	0.69	0.64	0.72	0.50	1.18	0.68	0.176	24.5
	15	0.97	0.98	0.98	0.78	0.88	1.09	1.13	1.32	0.93	0.88	0.98	0.87	0.98	0.78	1.32	0.54	0.143	14.6
	13	1.14	1.13	1.17	0.98	1.05	1.25	1.42	1.40	1.09	1.03	1.13	1.04	1.15	0.98	1.42	0.45	0.142	12.3
	11	1.39	1.33	1.40	1.23	1.27	1.45	1.69	1.53	1.29	1.23	1.39	1.27	1.37	1.23	1.69	0.46	0.136	9.9
	8	1.91	1.75	1.87	1.67	1.73	1.85	2.22	2.00	1.72	1.66	1.89	1.72	1.83	1.66	2.22	0.56	0.161	8.8
	6	2.00	1.96	1.98	1.79	1.80	2.00	2.41	2.14	1.85	1.76	2.03	1.84	1.96	1.76	2.41	0.65	0.182	9.3
	4	2.30	2.12	2.18	2.08	2.06	2.20	2.63	2.50	2.05	2.07	2.17	2.03	2.20	2.03	2.63	0.59	0.190	8.6
	3	2.55	2.41	2.43	2.22	2.32	2.45	2.92	2.68	2.26	2.29	2.56	2.26	2.45	2.22	2.92	0.69	0.204	8.4
	23	3.07	2.79	2.86	2.71	2.79	2.87	3.40	3.14	2.72	2.75	3.02	2.73	2.90	2.71	3.40	0.69	0.214	7.4
	19	3.84	3.42	3.51	3.33	3.38	3.48	3.98	3.80	3.35	3.44	3.63	3.36	3.54	3.33	3.98	0.65	0.219	6.2
	21	4.48	4.09	4.10	3.94	3.96	4.09	4.65	4.45	3.97	3.98	4.26	3.96	4.16	3.94	4.65	0.71	0.244	5.9
	20	5.43	4.68	4.74	4.55	4.61	4.64	5.45	5.10	4.61	4.71	5.00	4.58	4.84	4.55	5.45	0.90	0.325	6.7
	5	7.04	5.88	5.91	5.76	5.66	5.83	6.90	6.15	5.76	5.85	6.17	5.73	6.05	5.66	7.04	1.38	0.455	7.5
	7	8.05	6.99	6.90	6.68	6.88	6.76	7.91	7.23	6.74	6.88	7.26	6.92	7.10	6.68	8.05	1.36	0.446	6.3
	18	8.50	7.35	7.51	7.23	7.37	7.34	8.63	8.04	7.33	7.50	7.93	7.40	7.68	7.23	8.63	1.40	0.482	6.3
	16	9.64	8.32	8.38	8.14	8.40	8.17	9.74	9.03	8.30	8.41	8.99	8.49	8.67	8.14	9.74	1.60	0.553	6.4
	14	10.67	9.25	9.30	9.20	9.07	9.15	10.64	9.64	9.18	9.39	9.86	9.17	9.54	9.07	10.67	1.60	0.564	5.9
	12	11.57	10.22	10.29	10.53	10.11	10.16	12.13	10.75	10.24	10.39	10.98	10.33	10.64	10.11	12.13	2.02	0.628	5.9
	10	12.70	11.42	11.48	11.78	11.05	11.28	13.75	12.11	11.50	11.66	12.04	11.47	11.85	11.05	13.75	2.70	0.740	6.2
	9	14.98	13.66	13.59	14.19	13.27	13.56	16.50	13.84	13.69	13.87	14.19	13.70	14.09	13.27	16.50	3.22	0.873	6.2
	25	16.80	15.54	15.48	16.15	15.48	15.43	19.32	16.31	15.83	15.87	16.35	15.70	16.19	15.43	19.32	3.89	1.073	6.6
	2	21.16	19.22	19.18	19.51	19.01	19.14	24.62	20.28	19.70	19.51	19.92	17.11	19.86	17.11	24.62	7.52	1.771	8.9
	24	25.41	22.99	22.80	22.47	23.18	22.37	28.87	24.44	23.45	23.44	24.57	23.26	23.94	22.37	28.87	6.50	1.795	7.5

別紙.8

血清総ビリルビン　測定値および各方法補正値のCV%（＝メーカー間ばらつき)比較

全体

検体No.	平均値	CV (%)												
		補正なし	血清ﾍﾞｰｽ補正				BSA添加補正				BSA＋EDTA添加補正			
	(mg/dL)	測定値	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL
22	0.32	38.3	45.8	36.4	37.2	37.4	44.4	40.6	40.4	39.6	43.5	39.4	40.8	39.4
1	0.50	26.8	27.4	24.0	24.9	25.0	28.6	26.8	27.0	26.4	30.2	26.1	27.3	26.1
17	0.72	24.2	25.1	22.0	22.9	22.9	25.8	25.3	25.5	24.9	27.0	24.5	25.8	24.5
15	0.96	14.1	14.0	12.2	13.0	13.2	17.8	15.8	15.6	15.0	17.4	17.1	15.7	14.6
13	1.13	10.6	12.4	10.3	10.8	10.4	15.4	13.7	13.6	12.8	15.3	16.8	13.5	12.3
11	1.34	7.7	10.3	8.4	8.6	8.2	12.8	11.5	11.1	10.4	12.3	15.6	10.9	9.9
8	1.79	6.2	8.2	7.5	7.5	7.3	11.0	10.5	9.9	9.3	10.3	14.8	9.6	8.8
6	1.92	6.9	8.7	7.9	7.9	7.4	11.1	10.8	10.4	9.8	10.7	15.1	10.3	9.3
4	2.14	6.0	7.6	7.3	6.9	7.0	10.7	10.7	9.8	9.0	10.1	14.9	9.6	8.6
3	2.39	6.3	6.8	6.7	6.7	6.7	9.7	9.9	9.1	8.7	9.2	14.0	9.1	8.4
23	2.83	5.3	5.8	6.0	5.7	6.0	8.6	9.2	8.1	7.6	8.1	13.4	8.0	7.4
19	3.45	4.8	4.9	5.1	4.7	5.8	7.2	8.4	6.8	6.2	6.7	12.5	6.5	6.2
21	4.05	4.8	4.6	4.9	4.5	5.5	6.7	8.2	6.5	5.9	6.3	12.2	6.3	5.9
20	4.70	4.9	5.7	5.8	5.3	6.6	7.2	9.0	7.0	6.5	6.8	13.1	6.6	6.7
5	5.85	5.4	7.1	7.1	6.5	7.8	7.7	10.0	7.7	7.1	7.5	14.3	7.2	7.5
7	6.88	4.6	5.8	5.7	5.2	6.6	6.2	8.5	6.3	5.8	6.1	12.9	6.0	6.3
18	7.46	4.4	5.4	5.4	4.9	6.0	6.4	8.4	6.6	6.1	6.2	12.7	6.3	6.3
16	8.41	4.4	5.5	5.5	5.0	6.1	6.3	8.3	6.5	6.1	6.3	12.8	6.3	6.4
14	9.26	4.6	5.6	5.6	4.9	6.2	5.8	8.3	6.0	5.6	5.8	12.7	5.7	5.9
12	10.36	4.0	5.0	5.8	4.7	5.4	6.0	8.2	6.3	5.8	5.9	13.1	6.2	5.9
10	11.55	3.6	5.0	6.1	4.9	5.2	6.5	8.5	6.9	6.3	6.3	13.5	6.8	6.2
9	13.73	3.7	5.0	6.4	5.1	5.1	6.4	8.4	6.9	6.2	6.3	13.7	6.8	6.2
25	15.81	3.3	4.6	6.4	5.1	4.7	6.9	8.4	7.4	6.8	6.8	13.9	7.4	6.6
2	19.34	5.5	7.1	8.2	7.3	7.2	9.2	10.9	9.7	9.1	9.0	15.7	9.5	8.9
24	23.32	3.6	5.4	6.4	5.7	5.5	7.6	8.8	7.9	7.5	7.5	14.1	8.0	7.5
	CV平均(%	8.6	9.9	9.3	9.0	9.4	11.7	12.3	11.2	10.6	11.5	16.0	11.0	10.5

酸化法

検体No.	平均値	CV (%)												
		補正なし	血清ﾍﾞｰｽ補正				BSA添加補正				BSA＋EDTA添加補正			
	(mg/dL)	測定値	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL
22	0.29	24.8	24.1	21.0	21.3	21.5	35.7	22.7	21.9	20.9	39.7	21.7	21.5	21.0
1	0.51	22.1	18.9	18.2	18.5	18.6	26.4	19.8	19.1	18.0	29.8	18.8	18.7	18.2
17	0.71	15.8	12.5	12.5	12.9	13.1	18.8	14.3	13.5	12.5	21.0	13.3	12.7	12.2
15	0.96	11.7	8.7	8.9	9.4	9.7	14.1	10.9	10.0	9.0	14.7	9.8	8.9	8.5
13	1.12	10.5	7.9	8.2	8.8	9.1	12.5	10.3	9.4	8.5	13.1	9.4	8.0	7.5
11	1.33	8.8	7.2	7.2	7.8	8.0	10.6	9.2	8.4	7.5	10.7	8.7	6.8	6.2
8	1.77	6.6	5.9	5.8	6.6	6.7	8.4	7.7	7.1	6.3	7.7	7.6	5.1	4.6
6	1.90	7.5	6.0	6.0	6.7	6.9	8.4	7.9	7.2	6.3	7.8	7.4	5.7	5.1
4	2.11	6.1	4.3	4.2	4.9	5.2	6.6	6.4	5.5	4.8	5.9	5.7	3.6	3.3
3	2.36	6.4	4.5	4.4	5.1	5.5	6.6	6.6	5.7	5.0	5.7	5.7	4.0	3.7
23	2.79	5.2	3.6	3.4	4.1	4.4	5.3	5.5	4.6	4.0	4.2	5.1	2.7	2.4
19	3.43	4.6	3.1	2.7	3.4	3.8	4.3	4.9	4.0	3.5	3.0	4.5	1.9	1.9
21	4.04	4.7	3.2	2.7	3.4	3.7	4.1	4.8	3.9	3.3	2.7	4.4	2.1	1.7
20	4.67	3.8	2.6	2.0	2.8	3.2	3.5	4.2	3.3	3.0	1.4	3.8	1.0	1.3
5	5.84	4.0	2.7	2.0	2.8	3.1	3.3	4.2	3.3	2.9	1.4	3.8	1.2	1.2
7	6.88	3.4	2.6	2.3	2.7	2.8	2.7	3.4	2.8	2.5	1.2	4.0	1.6	1.4
18	7.42	3.2	2.6	2.1	2.7	2.9	3.0	3.7	3.0	2.8	0.8	4.2	0.9	1.1
16	8.36	2.6	2.5	2.3	2.6	2.5	2.5	3.0	2.6	2.5	1.0	4.3	1.4	1.3
14	9.26	3.5	2.3	1.6	2.2	2.5	2.6	3.5	2.6	2.5	0.5	3.5	0.4	1.0
12	10.29	3.1	2.1	1.7	2.2	2.3	2.3	3.1	2.4	2.2	0.5	3.9	0.8	0.8
10	11.49	3.1	2.1	1.6	2.1	2.3	2.3	3.1	2.4	2.3	0.7	3.7	0.7	1.1
9	13.70	3.5	1.8	1.2	1.8	1.9	1.9	2.9	2.0	1.8	0.5	3.5	0.7	0.8
25	15.67	3.3	1.8	1.4	1.9	1.9	1.9	2.8	2.0	2.0	1.1	3.7	1.2	1.2
2	19.02	7.0	5.6	4.5	5.1	5.9	5.7	7.1	5.7	5.7	4.9	4.6	4.6	5.0
24	23.08	2.9	2.1	2.0	2.2	2.2	2.2	2.7	2.1	2.3	1.8	3.8	1.7	1.8
	CV平均(%	7.1	5.6	5.2	5.8	6.0	7.8	7.0	6.2	5.7	7.3	6.7	4.7	4.6

ジアゾ法

検体No.	平均値	CV (%)												
		補正なし	血清ﾍﾞｰｽ補正				BSA添加補正				BSA＋EDTA添加補正			
	(mg/dL)	測定値	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL	回帰式	5mg/dL	10mg/dL	15mg/dL
22	0.35	46.9	54.4	45.4	46.9	47.0	42.9	49.4	50.3	49.7	45.9	47.1	50.9	49.0
1	0.48	32.9	36.0	30.8	32.3	32.3	31.4	34.6	35.7	35.2	33.4	33.6	36.2	34.6
17	0.73	31.9	34.5	30.1	31.6	31.4	30.7	33.8	35.1	34.5	33.2	32.3	35.7	33.8
15	0.97	17.3	17.8	15.3	16.7	16.7	19.5	19.1	20.1	19.6	19.9	20.8	20.6	19.1
13	1.14	11.6	15.7	12.3	13.1	12.2	16.3	15.7	16.9	16.3	17.1	20.3	17.3	15.6
11	1.36	7.2	12.3	9.2	9.5	8.5	12.9	12.1	13.1	12.7	13.3	18.2	13.5	12.0
8	1.81	6.1	9.3	7.8	8.1	7.5	10.9	10.6	11.3	10.9	11.1	16.9	11.6	10.4
6	1.94	7.0	10.4	9.0	9.1	8.0	11.8	11.5	12.5	12.2	12.2	17.9	12.9	11.5
4	2.18	6.0	8.7	8.0	8.0	7.6	11.5	11.3	11.6	10.8	11.5	17.1	11.8	10.2
3	2.43	6.5	7.5	7.1	7.5	7.2	9.9	9.9	10.6	10.4	10.1	15.9	11.0	9.8
23	2.88	5.4	6.0	5.9	6.1	6.2	8.6	8.8	9.1	8.8	8.6	15.0	9.3	8.3
19	3.47	5.4	5.3	5.3	5.3	6.8	7.6	8.5	7.7	7.2	7.5	14.3	7.7	7.1
21	4.07	5.3	5.1	5.2	5.1	6.5	7.2	8.3	7.5	7.0	7.1	14.1	7.5	6.8
20	4.73	5.9	6.7	6.4	6.3	8.2	7.7	9.2	7.9	7.4	7.6	14.9	7.6	7.7
5	5.86	6.6	9.1	8.7	8.3	10.2	9.0	11.1	9.2	8.6	9.0	17.0	8.6	9.1
7	6.89	5.8	7.4	6.7	6.5	8.6	7.1	9.2	7.4	6.9	7.2	15.0	6.9	7.4
18	7.50	5.5	6.4	5.9	5.8	7.5	7.1	8.6	7.4	7.0	7.1	14.5	7.3	7.2
16	8.49	5.6	6.5	5.8	5.7	7.6	6.9	8.4	7.2	6.9	6.9	14.4	7.1	7.1
14	9.27	5.8	7.1	6.8	6.2	8.0	6.7	8.9	7.1	6.6	6.8	14.9	6.7	7.0
12	10.44	4.7	6.1	6.8	5.7	6.7	6.9	8.5	7.3	6.7	6.7	15.1	7.1	6.6
10	11.62	4.3	6.3	7.5	6.3	6.6	7.9	9.3	8.5	7.8	7.6	16.1	8.4	7.5
9	13.77	4.1	6.6	8.4	6.9	6.8	8.3	9.5	8.9	8.1	7.9	16.8	8.7	7.8
25	15.98	3.4	5.7	7.9	6.6	5.7	8.7	9.2	9.3	8.6	8.2	16.6	9.4	8.0
2	19.73	3.3	7.3	9.1	8.2	7.3	10.4	10.8	11.0	10.3	10.0	18.3	11.0	9.8
24	23.60	4.1	6.6	7.5	7.2	6.8	9.5	9.5	9.8	9.4	9.1	16.7	9.9	9.0
	CV平均(%	9.9	12.2	11.2	11.2	11.5	12.7	13.8	13.7	13.2	13.0	19.0	13.8	12.9

別紙.9

血清総ビリルビン　測定値および各方法補正値のCV%（＝メーカー間ばらつき)比較（その2)

全体

検体No.	平均値	CV%											
		補正なし	回帰式による補正			5mg/dLによる補正			10mg/dLによる補正			15mg/dLによる補正		
	(mg/dL)	測定値	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA
22	0.32	38.3	45.8	44.4	43.5	36.4	40.6	39.4	37.2	40.4	40.8	37.4	39.6	39.4
1	0.50	26.8	27.4	28.6	30.2	24.0	26.8	26.1	24.9	27.0	27.3	25.0	26.4	26.1
17	0.72	24.2	25.1	25.8	27.0	22.0	25.3	24.5	22.9	25.5	25.8	22.9	24.9	24.5
15	0.96	14.1	14.0	17.8	17.4	12.2	15.8	17.1	13.0	15.6	15.7	13.2	15.0	14.6
13	1.13	10.6	12.4	15.4	15.3	10.3	13.7	16.8	10.8	13.6	13.5	10.4	12.8	12.3
11	1.34	7.7	10.3	12.8	12.3	8.4	11.5	15.6	8.6	11.1	10.9	8.2	10.4	9.9
8	1.79	6.2	8.2	11.0	10.3	7.5	10.5	14.8	7.5	9.9	9.6	7.3	9.3	8.8
6	1.92	6.9	8.7	11.1	10.7	7.9	10.8	15.1	7.9	10.4	10.3	7.4	9.8	9.3
4	2.14	6.0	7.6	10.7	10.1	7.3	10.7	14.9	6.9	9.8	9.6	7.0	9.0	8.6
3	2.39	6.3	6.8	9.7	9.2	6.7	9.9	14.0	6.7	9.1	9.1	6.7	8.7	8.4
23	2.83	5.3	5.8	8.6	8.1	6.0	9.2	13.4	5.7	8.1	8.0	6.0	7.6	7.4
19	3.45	4.8	4.9	7.2	6.7	5.1	8.4	12.5	4.7	6.8	6.5	5.8	6.2	6.2
21	4.05	4.8	4.6	6.7	6.3	4.9	8.2	12.2	4.5	6.5	6.3	5.5	5.9	5.9
20	4.70	4.9	5.7	7.2	6.8	5.8	9.0	13.1	5.3	7.0	6.6	6.6	6.5	6.7
5	5.85	5.4	7.1	7.7	7.5	7.1	10.0	14.3	6.5	7.7	7.2	7.8	7.1	7.5
7	6.88	4.6	5.8	6.2	6.1	5.7	8.5	12.9	5.2	6.3	6.0	6.6	5.8	6.3
18	7.46	4.4	5.4	6.4	6.2	5.4	8.4	12.7	4.9	6.6	6.3	6.0	6.1	6.3
16	8.41	4.4	5.5	6.3	6.3	5.5	8.3	12.8	5.0	6.5	6.3	6.1	6.1	6.4
14	9.26	4.6	5.6	5.8	5.8	5.6	8.3	12.7	4.9	6.0	5.7	6.2	5.6	5.9
12	10.36	4.0	5.0	6.0	5.9	5.8	8.2	13.1	4.7	6.3	6.2	5.4	5.8	5.9
10	11.55	3.6	5.0	6.5	6.3	6.1	8.5	13.5	4.9	6.9	6.8	5.2	6.3	6.2
9	13.73	3.7	5.0	6.4	6.3	6.4	8.4	13.7	5.1	6.9	6.8	5.1	6.2	6.2
25	15.81	3.3	4.6	6.9	6.8	6.4	8.4	13.9	5.1	7.4	7.4	4.7	6.8	6.6
2	19.34	5.5	7.1	9.2	9.0	8.2	10.9	15.7	7.3	9.7	9.5	7.2	9.1	8.9
24	23.32	3.6	5.4	7.6	7.5	6.4	8.8	14.1	5.7	7.9	8.0	5.5	7.5	7.5
	CV平均(%	8.6	9.9	11.7	11.5	9.3	12.3	16.0	9.0	11.2	11.0	9.4	10.6	10.5

酸化法

検体No.	平均値	CV%											
		補正なし	回帰式による補正			5mg/dLによる補正			10mg/dLによる補正			15mg/dLによる補正		
	(mg/dL)	測定値	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA
22	0.29	24.8	24.1	35.7	39.7	21.0	22.7	21.7	21.3	21.9	21.5	21.5	20.9	21.0
1	0.51	22.1	18.9	26.4	29.8	18.2	19.8	18.8	18.5	19.1	18.7	18.6	18.0	18.2
17	0.71	15.8	12.5	18.8	21.0	12.5	14.3	13.3	12.9	13.5	12.7	13.1	12.5	12.2
15	0.96	11.7	8.7	14.1	14.7	8.9	10.9	9.8	9.4	10.0	8.9	9.7	9.0	8.5
13	1.12	10.5	7.9	12.5	13.1	8.2	10.3	9.4	8.8	9.4	8.0	9.1	8.5	7.5
11	1.33	8.8	7.2	10.6	10.7	7.2	9.2	8.7	7.8	8.4	6.8	8.0	7.5	6.2
8	1.77	6.6	5.9	8.4	7.7	5.8	7.7	7.6	6.6	7.1	5.1	6.7	6.3	4.6
6	1.90	7.5	6.0	8.4	7.8	6.0	7.9	7.4	6.7	7.2	5.7	6.9	6.3	5.1
4	2.11	6.1	4.3	6.6	5.9	4.2	6.4	5.7	4.9	5.5	3.6	5.2	4.8	3.3
3	2.36	6.4	4.5	6.6	5.7	4.4	6.6	5.7	5.1	5.7	4.0	5.5	5.0	3.7
23	2.79	5.2	3.6	5.3	4.2	3.4	5.5	5.1	4.1	4.6	2.7	4.4	4.0	2.4
19	3.43	4.6	3.1	4.3	3.0	2.7	4.9	4.5	3.4	4.0	1.9	3.8	3.5	1.9
21	4.04	4.7	3.2	4.1	2.7	2.7	4.8	4.4	3.4	3.9	2.1	3.7	3.3	1.7
20	4.67	3.8	2.6	3.5	1.4	2.0	4.2	3.8	2.8	3.3	1.0	3.2	3.0	1.3
5	5.84	4.0	2.7	3.3	1.4	2.0	4.2	3.8	2.8	3.3	1.2	3.1	2.9	1.2
7	6.88	3.4	2.6	2.7	1.2	2.3	3.4	4.0	2.7	2.8	1.6	2.8	2.5	1.4
18	7.42	3.2	2.6	3.0	0.8	2.1	3.7	4.2	2.7	3.0	0.9	2.9	2.8	1.1
16	8.36	2.6	2.5	2.5	1.0	2.3	3.0	4.3	2.6	2.6	1.4	2.5	2.5	1.3
14	9.26	3.5	2.3	2.6	0.5	1.6	3.5	3.5	2.2	2.6	0.4	2.5	2.5	1.0
12	10.29	3.1	2.1	2.3	0.5	1.7	3.1	3.9	2.2	2.4	0.8	2.3	2.2	0.8
10	11.49	3.1	2.1	2.3	0.7	1.6	3.1	3.7	2.1	2.4	0.7	2.3	2.3	1.1
9	13.70	3.5	1.8	1.9	0.5	1.2	2.9	3.5	1.8	2.0	0.7	1.9	1.8	0.8
25	15.67	3.3	1.8	1.9	1.1	1.4	2.8	3.7	1.9	2.0	1.2	1.9	2.0	1.2
2	19.02	7.0	5.6	5.7	4.9	4.5	7.1	4.6	5.1	5.7	4.6	5.9	5.7	5.0
24	23.08	2.9	2.1	2.2	1.8	2.0	2.7	3.8	2.2	2.1	1.7	2.2	2.3	1.8
	CV平均(%	7.1	5.6	7.8	7.3	5.2	7.0	6.7	5.8	6.2	4.7	6.0	5.7	4.6

ジアゾ法

検体No.	平均値	CV%											
		補正なし	回帰式による補正			5mg/dLによる補正			10mg/dLによる補正			15mg/dLによる補正		
	(mg/dL)	測定値	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA
22	0.35	46.9	54.4	42.9	45.9	45.4	49.4	47.1	46.9	50.3	50.9	47.0	49.7	49.0
1	0.48	32.9	36.0	31.4	33.4	30.8	34.6	33.6	32.3	35.7	36.2	32.3	35.2	34.6
17	0.73	31.9	34.5	30.7	33.2	30.1	33.8	32.3	31.6	35.1	35.7	31.4	34.5	33.8
15	0.97	17.3	17.8	19.5	19.9	15.3	19.1	20.8	16.7	20.1	20.6	16.7	19.6	19.1
13	1.14	11.6	15.7	16.3	17.1	12.3	15.7	20.3	13.1	16.9	17.3	12.2	16.3	15.6
11	1.36	7.2	12.3	12.9	13.3	9.2	12.1	18.2	9.5	13.1	13.5	8.5	12.7	12.0
8	1.81	6.1	9.3	10.9	11.1	7.8	10.6	16.9	8.1	11.3	11.6	7.5	10.9	10.4
6	1.94	7.0	10.4	11.8	12.2	9.0	11.5	17.9	9.1	12.5	12.9	8.0	12.2	11.5
4	2.18	6.0	8.7	11.5	11.5	8.0	11.3	17.1	8.0	11.6	11.8	7.6	10.8	10.2
3	2.43	6.5	7.5	9.9	10.1	7.1	9.9	15.9	7.5	10.6	11.0	7.2	10.4	9.8
23	2.88	5.4	6.0	8.6	8.6	5.9	8.8	15.0	6.1	9.1	9.3	6.2	8.8	8.3
19	3.47	5.4	5.3	7.6	7.5	5.3	8.5	14.3	5.3	7.7	7.7	6.8	7.2	7.1
21	4.07	5.3	5.1	7.2	7.1	5.2	8.3	14.1	5.1	7.5	7.5	6.5	7.0	6.8
20	4.73	5.9	6.7	7.7	7.6	6.4	9.2	14.9	6.3	7.9	7.6	8.2	7.4	7.7
5	5.86	6.6	9.1	9.0	9.0	8.7	11.1	17.0	8.3	9.2	8.6	10.2	8.6	9.1
7	6.89	5.8	7.4	7.1	7.2	6.7	9.2	15.0	6.5	7.4	6.9	8.6	6.9	7.4
18	7.50	5.5	6.4	7.1	7.1	5.9	8.6	14.5	5.8	7.4	7.3	7.5	7.0	7.2
16	8.49	5.6	6.5	6.9	6.9	5.8	8.4	14.4	5.7	7.2	7.1	7.6	6.9	7.1
14	9.27	5.8	7.1	6.7	6.8	6.8	8.9	14.9	6.2	7.1	6.7	8.0	6.6	7.0
12	10.44	4.7	6.1	6.9	6.7	6.8	8.5	15.1	5.7	7.3	7.1	6.7	6.7	6.6
10	11.62	4.3	6.3	7.9	7.6	7.5	9.3	16.1	6.3	8.5	8.4	6.6	7.8	7.5
9	13.77	4.1	6.6	8.3	7.9	8.4	9.5	16.8	6.9	8.9	8.7	6.8	8.1	7.8
25	15.98	3.4	5.7	8.7	8.2	7.9	9.2	16.6	6.6	9.3	9.4	5.7	8.6	8.0
2	19.73	3.3	7.3	10.4	10.0	9.1	10.8	18.3	8.2	11.0	11.0	7.3	10.3	9.8
24	23.60	4.1	6.6	9.5	9.1	7.5	9.5	16.7	7.2	9.8	9.9	6.8	9.4	9.0
	CV平均(%	9.9	12.2	12.7	13.0	11.2	13.8	19.0	11.2	13.7	13.8	11.5	13.2	12.9

別紙.10

血清ビリルビン　各試料の各社測定値CVの平均値比較

全体

		候補品種類			
		血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	補正なし
補正方法	回帰式	9.9	11.7	11.5	8.6
	5mg/dL	9.3	12.3	16.0	
	10mg/dL	9.0	11.2	11.0	
	15mg/dL	9.4	10.6	10.5	

単位(%)

酸化法

		候補品種類			
		血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	補正なし
補正方法	回帰式	5.6	7.8	7.3	7.1
	5mg/dL	5.2	7.0	6.7	
	10mg/dL	5.8	6.2	4.7	
	15mg/dL	6.0	5.7	4.6	

単位(%)

ジアゾ法

		候補品種類			
		血清ﾍﾞｰｽ	BSA添加	EDTA	補正なし
補正方法	回帰式	12.2	12.7	13.0	9.9
	5mg/dL	11.2	13.8	19.0	
	10mg/dL	11.2	13.7	13.8	
	15mg/dL	11.5	13.2	12.9	

単位(%)

２－２－４　国際標準化への対応

要旨

１）新たに設定された実試料標準物質について JCTLM へノミネーションするために必要な文書の英文化の作業を行う。

２）文書の英文化は、値付けの方法、認証書および取扱説明書についてであり、血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウム、ヘモグロビン A1c(HbA1c)、総カルシウムおよび総マグネシウムの測定項目である。

３）JCTLM へのノミネーション Cycle Ⅳへは、血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウム、ヘモグロビン A1c(HbA1c)、総カルシウムおよび総マグネシウムについて予定する。

１．目的

2002 年 BIPM（国際度量衡局）において、BIPM と IFCC の共催で「Symposium on Traceability in Laboratory Medicine」と称する国際会議が開催された。参加団体はヨーロッパ、米国、日本における臨床検査医学に関係する政府機関、学会、標準物質供給機関および関連企業団体等であった。日本からは厚生労働省、経済産業省、産業技術総合研究所、日本臨床化学会、福祉・医療技術振興会および（社）日本臨床検査薬協会等の代表者が参加した。

この会議において、検査医学のトレーサビリティに関する合同委員会（JCTLM）が発足することが合意された。主たる内容はトレーサビリティをとる標準物質の設定である。発起機関は４つの国際的および政府間の推進母体として、BIPM/CIPM (Bureau international des poids et measures:国際度量衡局/Comite international des poids et mesures：国際度量衡委員会)、IFCC、WHO、ILAC （International Laboratory Accreditation Cooperation：国際試験所認定機構）であり、これに参加各国の協力機関で推進する。

本活動を通して、患者のための保健医療（Healthcare）の質の向上、繰り返し検査の減少と保健医療の効率性の向上によるコストの削減、IVD 企業のためのコスト削減、地域標準の統一化による重複した規格の除去、測定と検査のグローバルな承認を通して貿易の技術的障壁の除去などを図る。

具体的に標準化を推進する方法として、原則的には認証標準物質（Certified Reference Materials: CRM）および基準測定操作法（Reference Measurement Procedure: RMP）が存在し、それらを使用して基準測定検査室（Reference Measurement Laboratories: RML）が測定した測定値を介して、各国・各地域の RML が相互に標準化の確立を行うことである。

２．検討内容

日本臨床化学会の血液ガス・電解質専門委員会（現 POCT 専門委員会：委員長桑　克彦）および酵素・試薬専門委員会：委員長美崎英生）において進められてきた標準物質の設定作業について、値付けの方法、標準物質の認証書および取扱説明書の各文書を英文化する。

３．結果

JCTLM ノミネーションの準備状況を表１に示した。このうち JCTLM へのノミネーション Cycle Ⅳへは、血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウム、ヘモグロビン A_{1c}(HbA_{1c})、総カルシウムおよび総マグネシウムについて予定する。

表１　JCTLMへのノミネーションの準備状況

測定項目	値付けの方法	認証書・取扱説明書	ノミネーション：Cycle Ⅳ
血液ガス	○	○	○
コリンエステラーゼ	○	○	○
グリコアルブミン	○	―	―
イオン化カルシウム	○	○	○
ヘモグロビンA1c	○	○	○
総カルシウム	○	○	○
総マグネシウム	○	○	○
グリコアルブミン	○	―	―

４．今後の課題

JCTLM へのノミネーション Cycle Ⅳへは、血液ガスおよびイオン化カルシウムの実試料標準物質（常用）について準備ができた。さらに平成 19 年度の研究開発で実試料標準物質の設定が予定されるコリンエステラーゼ、ヘモグロビン A_{1c}(HbA_{1c})、総カルシウムおよび総マグネシウムについて予定する。

５．まとめ

設定された実試料標準物質について JCTLM へノミネーションするために必要な文書の英文化の作業を値付けの方法、認証書および取扱説明書について血液ガス、コリンエステラーゼ、イオン化カルシウム、ヘモグロビン A_{1c}(HbA_{1c})、総カルシウムおよび総マグネシウムの測定項目について行った。このうち JCTLM へのノミネーション Cycle Ⅳへは、血液ガスおよびイオン化カルシウムについて行う。

２－３　純物質系標準物質の研究開発

要旨

１）蛋白質の濃度決定法としてのアミノ酸分析法について詳細な検討を行った。特に同位体希釈質量分析法の適用によるアミノ酸分析法の確立を行った。

２）C 反応性蛋白溶液について安定性試験方法として複数の方法を確立し、安定性試験を開始した。

３）アルブミンに関しては、アミノ酸分析法による濃度決定のために必要な純度の評価方法に関する検討を行った。

４）コルチゾールに関しては、一次標準測定法による直接の純度決定は困難であるとの結論を得たため、少量の高純度物質を調製し、これを基準にした値付けによる標準物質開発について検討していくことにした。

２－３－１　研究背景

１．はじめに

産業技術総合研究所計量標準総合センターでは、定量分析の基準となる標準物質の開発を進めており、これまでに一次標準測定法を用いて環境分析用を中心とする有機化合物に関する純物質標準物質や組成標準物質の開発と供給を行ってきた。臨床検査用標準物質に関しても、低分子の有機化合物については、国際度量衡委員会物質量諮問委員会(CIPM/CCQM)で定義されている一次標準測定法によりトレーサビリティの確保されうる測定体系の構築が可能であると考えられるが、現実には化合物ごとに適用可能な手法が限られるため、実際の開発に当たっては物質ごとに値付けの方法を選定し、決定していく必要がある。特に、臨床検査分野で測定対象である代謝物に代表される低分子の有機化合物は、熱的に不安定であったり、類似の化合物からの分離が困難等の化合物が多いため、標準物質開発における値付け方法に関しても十分な検討が必要である。

一方、蛋白質などの生体高分子については、現状の一次標準測定法は直接的には適用できないため、蛋白質における国際単位系（SI）トレーサブルな測定体系を確立していくことが必要である。SI トレーサブルといえる蛋白質標準物質は世界的にもまだほとんど例のないものであり、CIPM/CCQM においても、蛋白質の SI トレーサブルな定量方法に関する議論が行われているところである。

２．目的

本研究では、C 反応性蛋白、アルブミン、およびコルチゾールに関しての純物質系標準物質の開発を目指している。C 反応性蛋白およびアルブミンについては、蛋白質における国際単位系（SI）トレーサブルな測定体系について検討するとともに、それらを用いた純物質系標準物質の開発を目標にした。平成１８年度は、蛋白質標準物質の開発の基本となる、蛋白質の濃度決定法としてのアミノ酸分析法について詳細な検討を行い、特に一次標準測定法の観点から、同位体希釈質量分析法によるアミノ酸分析法の確立を目指した。また、C 反応性蛋白については、平成１７年度に選定した候補物質について、安定性試験を開始し、標準物質の安定性についての知見を得るこ

ととした。なお、C 反応性蛋白およびアルブミンについては、本プロジェクトの「実試料系標準物質の研究開発」において、血清ベースの標準物質開発を行っており、最終的には実試料系標準物質の値付けの基準にすることを目標にしている。さらに、コルチゾールについては、SI トレーサブルな値付け方法の適用についての検討を行い、標準物質の値付けの方針の確立を目指した。

２－３－２　研究担当者

産業技術総合研究所計測標準研究部門
有機分析科バイオメディカル標準研究室
高津章子、加藤愛、加藤尚志、絹見朋也
有機分析科　加藤健次

２－３－３　C 反応性蛋白およびアルブミン

１．蛋白質の濃度決定法としてのアミノ酸分析法の検討

（１）背景

アミノ酸分析による蛋白質定量においては、蛋白質を基本構成単位であるアミノ酸にまで分解後、それぞれのアミノ酸を HPLC で分離定量し、その結果からもとの蛋白質量を求める。換算にあたっては、蛋白質の分解過程で同時に分解してしまうアミノ酸もあるため、個々のアミノ酸の定量結果から、一次構造をもとに計算される各々のアミノ酸の蛋白質１分子に含まれる割合を元に蛋白質量を求めることにした。

平成１７年度は蛍光標識を利用したアミノ酸分析法について基礎的検討を行ったが、本年度はそれに加え、より精確な値付けを可能にするため、同位体希釈質量分析法を利用したアミノ酸分析法の確立を試みた。また、いずれの方法においても問題となる前処理操作中の試料の取り扱いについても見直しを行った。

（２）同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析法の基礎的検討

同位体希釈質量分析法（IDMS）は CIPM/CCQM（国際度量衡委員会/物質量諮問委員会）において信頼性の高い一次標準測定法（primary method of measurement）の一つとされている分析法であり、同位体平衡が実現していれば、多段階の前処理操作を含む実験においても回収率が結果に影響しない非常に有用な測定技術である。本研究においては、同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析の実施にあたり、その基礎的な分離条件の確立および定量性の確認を行った。

１）実験方法

①　溶離条件の確立

LC/MS 装置は質量分析部が四重極型である島津製作所製 LC/MS-201-EV を用いた。イオン化は ESI プローブを用いた大気圧イオン化法により行い、選択イオン検出（SIM）により検出を行った。カラムには ID 2.1×250 mm の ZIC-HILIC (SeQuant)を用いた。移動相 A には 10 mM 酢酸、移動相 B にはアセトニトリルを用いたグラジエントとした。

②　定量直線性および測定ばらつきの確認

非標識化合物とそれに対応する標識体化合物のピーク強度比が 0.8, 0.9, 1.0, 1.1, 1.2 になる

ように、濃度既知のアミノ酸標準溶液（NIST SRM 2389）と標識体化合物溶液の混合溶液を質量比混合法により精密に調製し、質量比とピーク強度比の関係を調べた。また、各々の混合溶液について *n*=3 で測定を行い、測定ばらつきの確認も行った。

2）結果および考察

① 溶離条件の確立

5 種のアミノ酸（Phe:phenylalanine, Leu: leucine, Ileu: isoleuicine, Pro: proline, Val: valine）と 4 種の標識体化合物（Pro, Ile, Pro, Val）について、マスクロマトグラム（図 1）により分離を確認したところ、いずれの化合物も単一のピークであり、また同一の分子量を持つ natural Leu と natural Ile は十分に分離されていることが確認できた。また非標識体とそれに対応する標識体はいずれも同一の保持時間を示すことが確認できた。

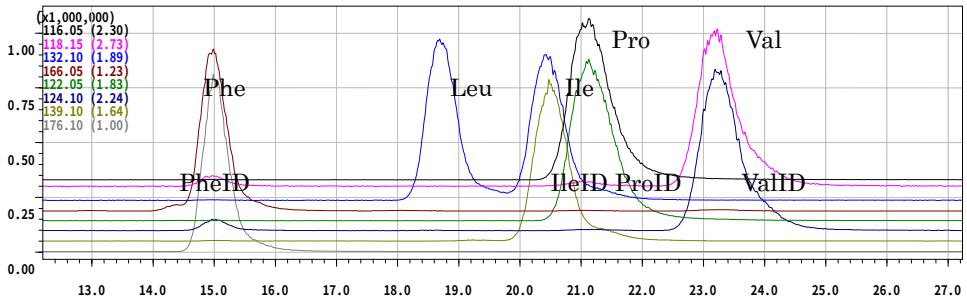


図 1　同位体希釈質量分析におけるアミノ酸の分離

② 定量直線性および測定ばらつき

各々の化合物について、X 軸を質量比、Y 軸をピーク強度比として検量線を描いたところ、原点を通過させないで検量線を描いた場合には、いずれの化合物においても相関係数の 2 乗は 0.9997 以上であり、概ね直線性に問題は無いものと判断した。一方、原点を通過させて検量線を描いた場合には、相関係数の 2 乗が 0.999 以上になるものは Phe のみであり、Phe 以外は一点検量線法による定量は困難であると判断した。

各アミノ酸の測定ばらつきについては表 1 のような結果を得た。すべての化合物について RSD ≒ 0.5～1.5%であり、概ね良好な再現性が得られた。

表 1　同位体希釈質量分析における各アミノ酸の測定再現性（%）

	質量比 0.8	質量比 0.9	質量比 1.0	質量比 1.1	質量比 1.2
Pro	0.346	0.073	0.449	0.200	0.177
Val	0.441	0.573	0.418	0.295	0.509
Ile	1.255	1.089	0.685	0.905	0.416
Phe	0.433	0.437	0.343	0.433	0.721

（３）試料調製法の改良

本研究で用いた AQC(6-aminoquinolyl-N-Hydroxysuccinimidyl carbamate) 法および同位体希釈質量分析法はいずれも高感度、簡便という特徴を有する反面、高感度ゆえ器具や環境中の蛋白質、アミノ酸などの夾雑物の影響を受けやすいことが問題であった。そのため、バックグランドノイズを低減のための試料調製法の改良を行った。主な点は、サンプリングを行ってから加水分解 AQC 試薬による標識までほぼ全行程について、１）クリーンベンチ内で行う、２）全てのプラスチック器具はクリーンベンチ内で開封、取り扱いし、open な環境にさらさない、３）全てのガラス器具は 500℃で 4 時間加熱し有機物を分解させる、の３つである。以上の操作を徹底することでバックグランドとして観測されていたグリシン、セリンの影響を排除し、安定した定量結果を得ることが可能になった。

（４）まとめ

濃度決定法に関しては、新たに同位体希釈質量分析法を用いたアミノ酸分析の基礎的検討を行い、より精確な値付けを可能にする体制を整えた。今後は本測定法を含めた各種測定法（アミノ酸分析、窒素分析）による測定値の相互比較、および蛋白質 CRM を用いた確認により、測定値の正確性を向上させていきたいと考えている。

２．　C 反応性蛋白溶液について安定性試験方法の確立

（１）背景

平成 17 年度の研究において、（株）オリエンタル酵母のリコンビナント型ヒト CRP 溶液を候補標準物質として選定した。標準物質として供給していくためには、供給している間の試料の安定性を保証する必要があることから、純度安定性評価のための測定系の開発を行った。候補測定系としては逆相カラムクロマトグラフィ、ゲルろ過カラムクロマトグラフィ、アフィニティカラムクロマトグラフィの３つの方法であり、このうち、ゲルろ過カラムクロマトグラフィ、アフィニティカラムクロマトグラフィに関しては平成１７年度にすでに検討を行ったため、本年度は逆相カラムクロマトグラフィを中心に検討した。

（２）逆相カラムクロマトグラフィ

逆相クロマトグラフィーは、固定相の表面にリガンドとして疎水基（アルキル基、フェニル基など）を化学的に結合させたシリカや合成ポリマーを利用し、疎水性の強弱により試料中の蛋白質を分離する方法である。一般に他のクロマトグラフィと比較して分解能が高い、測定再現性が高いなどの特徴を有していることから、CRP への応用を試みた。本研究においては、まず CRP の溶離条件の確立後、定量再現性の確認、凍結融解サンプルを用いた測定系の評価を行い、その後日間誤差補正用の外部標準物質について検討した。

１） 実験方法

①　溶離条件

Frank A.らの文献[１]を参考に以下のような溶離条件を確立した。LC は日本ウォーターズ社製・Alliance2695 及び島津製作所製・Prominence LC-10A を用いた。カラムは ID 4.6×75 mm

の TSK gel Phenyl- 5 PW RP (TOSOH)を用いた。移動相 A は 0.01 ％ TFA、移動相 B は 0.01 % TFA-アセトニトリルを用い、流速 1 ml/min でグラジエントモードで分離を行った。ピーク検出は UV 検出器（λ = 220 nm, 280 nm）により行った。

② 凍結融解サンプルを用いた測定系の評価

凍結融解サンプルを用いて、本測定系がサンプル中の未分解 CRP を定量するのに使用可能かどうかの評価を行った。サンプルの調製方法については、昨年度の報告と同様。凍結融解回数 0 回、2 回、5 回、10 回のサンプルを 1μg 相当量注入した際のピーク面積値の比較を行った。

③ 日間誤差補正用・外部標準物質の検討

外部標準の候補物質として、凍結乾燥蛋白質である（b）Glutamate dehydrogenase、（c）Lysozyme、（d）Myoglobin、（e）Cytochrome C と、アミノ酸もしくはその誘導体（いずれも粉末）である（f）Tryptophan（g）DNP-Alanine（h）DNP-Serine の計 7 つについて、分離プロファイルの確認を行った。

④ Tryptophan 溶液の調製方法と調製誤差の関連性評価

実際の日間誤差補正では濃度既知（秤量ベース）の Tryptophan 溶液のピーク面積値を単位濃度当りに換算し、それらを「補正時の感度係数」として用いることにした。そこで Tryptophan 溶液調製に当たっての試料量のスケールや容器の種類を替えて調製を行い、調製誤差（日間誤差）の最も小さくなる方法を検討した。

２） 結果および考察

上記の条件で分離分析を行ったところ、CRP はλ＝220 nm, 280 nm 共に単一のピークとして検出することが出来た（図２）。 また、複数回サンプル注入を行ったところ、r^2>0.997 の定量直線性と、RSD ≒ 0.5～１％(1～2μg をアプライ時) の良好な再現性を得られることが分かった。

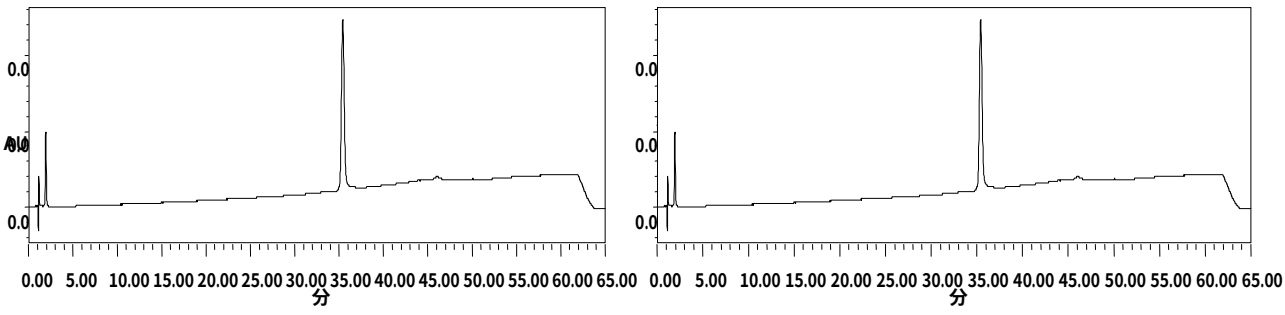


図２ 逆相 HPLC を用いた CRP の分離 ((左図)220 nm, (右図) 280 nm)

凍結融解サンプル中の未分解 CRP の定量を行ったところ、凍結融解回数が増えるにつれて、未分解 CRP は漸次減少していく様子がみられた（図３）。よって①～③より、本測定系は候補標準物質（CRP）の化学的安定性を評価するのに十分な分離能、定量性を有しているものと結論付けた。

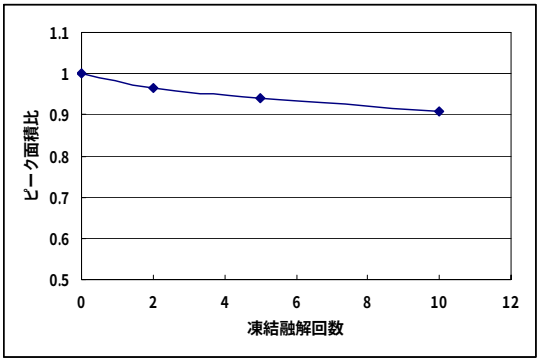


図３　逆相 HPLC を用いた凍結融解サンプルの安定性評価

外部標準の候補物質それぞれについて分離分析を行ったところ、(c) Lysozyme、(e) Cytochrome C、(f) Tryptophan、(g) DNP-Alanine については CRP と違った保持を示し、かつ良好な分離を示すことが分かった。個々の物質のコストを考慮し、(e) Cytochrome C、(f) Tryptophan を最適な候補・外部標準物質として以下の実験を行うこととした。

CRP、Cytochrome C、Tryptophan の各々について繰り返し測定を行ったところ、CRP と Tryptophan については RSD < 1 %の良好な測定再現性を得た。また、それらのバイアル間誤差、希釈誤差は測定誤差と比較して無視できる程度であった。一方、Cytochrome C については、初期のインジェクションサンプルの測定値が低く出る傾向にあり、恐らくニードル周辺への吸着が影響しているものと思われる。よって、外部標準物質としては、Tryptophan が最適であるものと結論付けた。また、λ＝220 nm の時の方がλ＝280 nm に比べて測定値が 10 倍程度高く得られ、測定再現性も良好であった。

Tryptophan 溶液の調製は最初、ミクロ天秤を使用したスモールスケールで行ったところ、個々の溶液の測定平均値間には有意差があるとの結果が得られた。従って、はかりとりの量を増やして調製したところ、測定平均値間に有意差は見られなかった。すなわち、外部標準溶液の調製は、ラージスケールで調製を行う必要があり、また、ラージスケールでの希釈液調製はプラスチック容器もしくはガラス容器で行ったが, 容器の材質の違いによる調製誤差は見られなかった。

（3）ゲルろ過カラムクロマトグラフィ

本測定系における溶離条件、測定再現性の確認、凍結融解サンプルを用いた測定系の評価については、昨年度に報告した。本研究においては、その溶離条件に若干変更を加えたほか、日間誤差補正用の外部標準物質の検討を行った。

１）実験方法

①　流速およびサンプル量の再検討

本測定における基本的な溶離条件は表２のとおりであり、これについては既に報告済みである。一方、これまでの溶離条件においては、１分析時間が 70 分と非常に長く、今後数多くのサンプルを測定する際に不都合を生じることが予想された。そこで「流速を 2 倍、分析時間を 40 分に短縮した場合」について、ピーク形状および測定再現性の確認を行った。また同時にサンプルの至適アプライ量についても検討した。

表２　ゲルろ過 HPLC による CRP の溶離条件

カラム	TSK-Super SW3000 (TOSOH)
溶離液	0.1M Tris-HCl-0.15M NaCl-1mM EDTA (pH 7.5)
流速	0.1 ml/min
分析時間	70 分
検出	UV（λ= 225 nm, 280nm）
カラム温度	30℃

②　日間誤差補正用・外部標準物質の検討

外部標準の候補物質として、凍結乾燥蛋白質である（b）Cytochrome C と、アミノ酸（粉末）である（c）Tryptophan、防腐剤である（ｄ）Azide(粉末)について、分離プロファイルの確認を行った。

２）結果および考察

図４のようにピーク形状に関しては、流速を 2 倍にしてもほぼ同等の結果を得た。また、各流速およびサンプル量における測定再現性は、10μg 相当をアプライした場合の結果については流速の高低に関わらず、RSD＝0.3%台の高い測定再現性を得た。よって以後の実験では、流速 0.2 ml/min、分析時間　40 分、サンプル量　10μg 相当として測定を行うこととした。

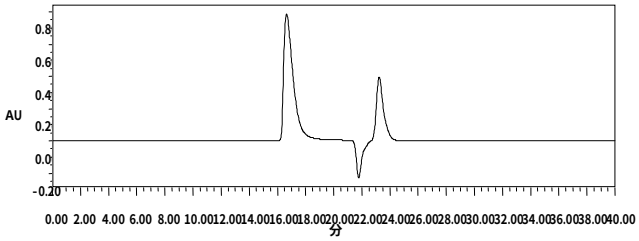


図４　ゲルろ過 HPLC における CRP の分離（流速 0.2 ml./min）

外部標準候補物質それぞれについて分離分析を行ったところ、いずれの物質も CRP と違った保持を示し、かつ良好な分離を示すことが分かった。ただし Cytochrome C については、調製時の攪拌によって蛋白質の一部が変性するためか、調製日によりピーク形状が異なっていたため、外部標準物質としては不適であると判断した。また Tryptophan についてはλ＝225 nm では別の物質と吸収が重なってしまうこと、Azide についてはλ＝280 nm では吸収を持たないことから、Tryptophan をλ＝280nm 特異的、Azide をλ＝225 nm 特異的な外部標準候補物質として以下の実験を行うこととした。

CRP、Azide、Tryptophan の各々について繰り返し測定を行ったところ、いずれの物質についても RSD =0.5 %前後の良好な測定再現性が得られ、またそれらのバイアル間誤差、希釈誤差は測定誤差と比較して無視できる程度であった。また、λ＝225 nm、280 nm の 2 波長での検出結

果についてはいずれも測定再現性が良好であった。

（4）アフィニティカラムクロマトグラフィ

本測定における溶離条件の検討、測定再現性の確認、凍結融解サンプルを用いた測定系の評価については、すでに報告済みである。ただし、本測定系においては、「測定に用いた蛋白質のうち、カラムへの吸着活性を保持している蛋白質の割合」を回収率として測定しているため、測定により得られる値はあくまで測定時の蛋白量に対しての相対的な値であり、仮に蛋白質の一部がすでに分解するなどしていた場合は、測定値の正確性は低くなる。そこで、以下のような方法（のいずれか）を同時に行う必要があると考えられる。

・各測定時に-80℃ストックサンプルの回収率を同時測定し、それを１とした各サンプルの相対的回収率を算出し比較する。

・逆相 HPLC およびゲルろ過 HPLC で化学的な蛋白質量が変化していないことを確認した上で、各測定時における回収率を比較する。

前者については、－80℃ストックした蛋白質は分解しにくいとの仮定のもとの方法である。一方、後者については、逆相 HPLC およびゲルろ過 HPLC の方がアフィニティクロマトグラフィと比較して蛋白質の絶対量を測定するのに適しているとの仮定のもとに考案した方法である。いずれの方法を採択するかについては今後データの蓄積をしていった上で判断することにした。

（5）まとめ

Ｃ反応性蛋白の安定性評価法のための測定系の確立に関しては、当初計画していた測定系のうち最後の１つである逆相 HPLＣの系が確立でき、また確立したいずれの測定系についても、日間誤差の補正方法についての方針および補正のための外部標準物質の検討を終了することが出来た。外部標準物質に関しては、いずれも比較的安定性が高いと思われる低分子の化合物を選択したが、それらの安定性に関する詳細な知見は得られていないため、今後のデータの推移を見守る必要がある。

３．　C 反応性蛋白溶液について安定性試験

（1）はじめに

CRP 溶液の値付けを行うに先立ち、試験用 CRP 溶液を用いて予備安定性試験を行い安定性評価のための最適な測定系、標準物質の有効期限、および安定性評価の周期などについて知見を得ることとした。

試験用 CRP 溶液は値付け用のサンプルと同規格のものを 100 本用意し、-80℃、4℃、37℃に適当な本数ずつ分別ストックしたのち、一定期間経過毎に 2 バイアルずつ測定を行った。-80℃と 37℃では蛋白質の分解速度に違いがあることが予想されたため、「37℃ vs. 4℃」と「-80℃ vs. 4℃」の安定性試験は別立てで行った。

（2）実験方法

①　「37℃ vs. 4℃」の安定性試験

逆相 HPLC, ゲルろ過 HPLC, アフィニティクロマトグラフィの 3 つの測定系を用いて、37℃もしく 4℃に 1, 2, 4 週間保存したサンプルの安定性評価を行った。

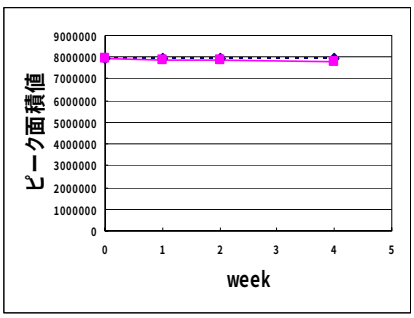
② 「-80℃ vs. 4℃」の安定性試験

アフィニティクロマトグラフィの系についてのみ、－80℃もしくは 4℃に 0, 3, 6 ヶ月保存したサンプルの安定性評価を行った。

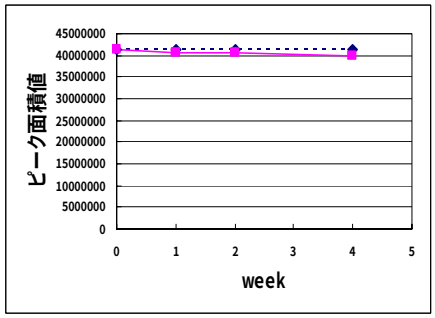
（3）結果および考察

① 「37℃ vs. 4℃」の安定性試験

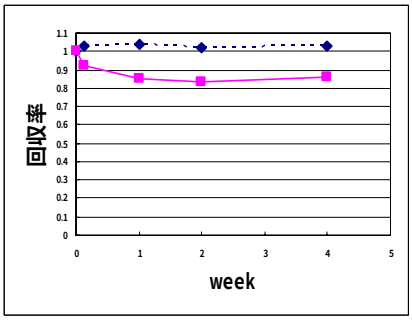
37℃もしくは 4℃に一定期間保存したサンプルを用いて 3 つの測定系により安定性評価をしたところ、アフィニティクロマトグラフィにおいてのみ、37℃－4℃間の安定性に有意な差が見て取れた（図５(c)）。このことより、37℃保存によって引き起こされる CRP の分解は、アフィニティカラムへの吸着のみが変化するような非常に部分構造的なものであることが予想された。またこれらの結果から、3 つの測定系のうちアフィニティクロマトグラフィが最も感度良く CRP の分解を評価できる系である可能性が示唆された。



(a)逆相 HPLC(220 nm)



(b)ゲルろ過 HPLC(225 nm)



(c)アフィニティクロマトグラフィ

図５ CRP の「37℃ vs. 4℃」 保存安定性 （点線：4℃保存、実線：37℃保存）

② 「-80℃ vs. 4℃」の安定性試験

アフィニティクロマトグラフィの系についての結果を示すが、6 ヶ月目までは-80℃、4℃ストックのサンプルは共に分解している様子はみられなかった（図６）。

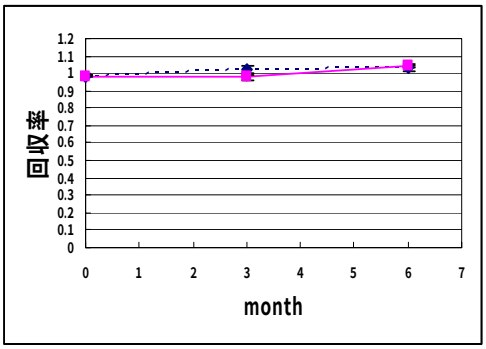


図６　CRP の「-80℃ vs. 4℃」 保存安定性 （点線：4℃保存、実線：-80℃保存）

（４）まとめ

Ｃ反応性蛋白の予備安定性試験に関しては、37℃ ストックサンプルの安定性評価に関して測定方法によって顕著な差が見られた。この結果は、今後Ｃ反応性蛋白の安定性評価における方針を策定していく上で大いに参考になると考えられる。

４．　アルブミン標準物質

血清アルブミンの値付けを行うための予備検討を行った。アミノ酸分析に関しては、基本的にはＣ反応性蛋白質とほぼ同様の条件で分析可能と考えられるが、アミノ酸分析法では、蛋白質についての選択性はないため、候補標準品が本当に均一なアルブミンであるのか、あるいは、共存する他の蛋白質についての情報が不可欠である。血清からの精製品であるアルブミンはアミノ酸側鎖が様々な修飾を受けることが知られている。そこで、まず、市販の精製ヒト血清アルブミン(試薬)についてエレクトロスプレーイオン化(ESI)質量分析装置を用いて分子量についての解析を行った結果、m/z=66486±5 および 66607±5 にほぼ同じ強度に相当する質量値を得た。m/z= 66486 に相当するピークはインタクトのアルブミン、m/z= 66607 に相当するピークはシステイン修飾を受けたアルブミンであると考えられた。さらに、LC-ESI MS を用いて夾雑物について測定を行った結果、アルブミン以外に少なくとも２種類の蛋白質と考えられる多価イオンピークを観測した。

これらの結果はアルブミン分子の不均一性、および夾雑蛋白質の存在を示し、アミノ酸分析による値付けを行うにあたって、定量値にバイアスをもたらす原因となる。したがって、標準物質候補品について、同様の評価が不可欠であり、純度決定のための検討事項として修飾アミノ酸および夾雑蛋白質の同定と定量が必要であることがわかった。

２－３－４　コルチゾール

１．直接的な値付け方法の検討

コルチゾールは、副腎皮質から分泌される主要な糖質ステロイドで、糖代謝をはじめ、蛋白質や脂質代謝にも関与する生体にとって必須のホルモンである。純物質系標準物質を開発するためには、純度決定の方法が必要となる。有機物の純度測定法の一つに凝固点降下を利用する方法があるがまずこの方法が適用できるかについて検討を行った。すなわち、熱重量測定を行い、コルチゾールの熱的な挙動について検討を行ったところ、融点付近で熱分解すると考えられ、凝固点

降下法による純度測定は困難であることがわかった。

次に、不純物の同定・定量から純度を決める方法について検討した。いくつかの市販試薬について、HPLC による不純物の測定を行った。図 7 に、もっとも不純物が少なかった試料のクロマトグラム(拡大図)を示す。最も不純物が少なかったとはいえ、拡大してみると多数のピークが見られており、これらを同定、定量して純度を算出することはきわめて困難と考えられる。従って、純度を決定するためには、精製の必要があるが、この場合、精製品を大量に入手することはきわめて困難である。

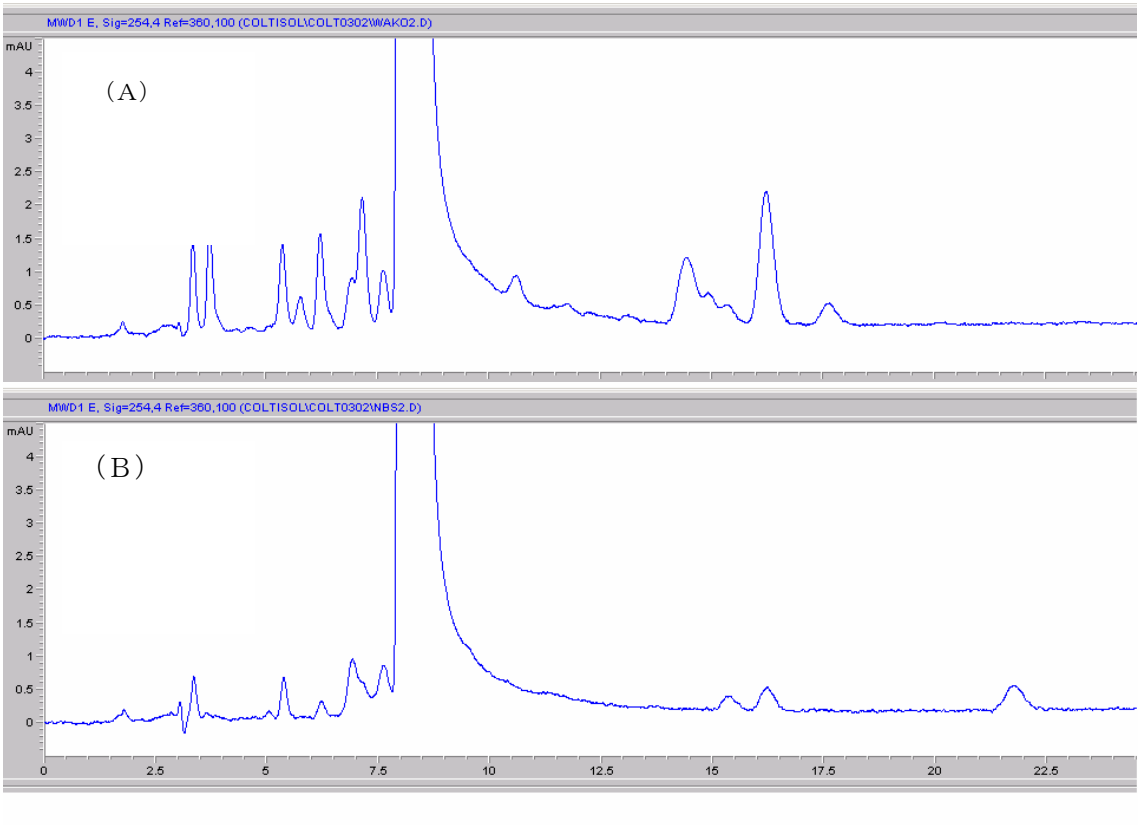


図 7　コルチゾール市販試薬（A）および NIST SRM 921（B）の HPLC クロマトグラム

このような状況から、少量の高純度物質を調製し、純度測定を行った上で、それを基準として値をつけるスキームが現実的な対応策であると考え、以下に、そのために必要となる高純度物質からの値付け方法について検討した。

２．同位体希釈質量分析法を用いた値付け方法の検討

（１）背景

少量の高純度標準物質を基準に同位体希釈質量分析法（ID/MS）法を用いた値付けによる標準物質供給実用化の可能性を検討するため、ガスクロマトグラフィー質量分析（GC-ID/MS）法および液体クロマトグラフィー質量分析（LC-ID/MS）法によるコルチゾール分析法について、検討を行った。

（2）ガスクロマトグラフィー質量分析法

1）実験

質量分析計として Aggilent 社製 5973MSD 四重極型 GC-MS 装置を用いた。インターフェースには EI を用いポジティブモードで測定を行った。カラムは長さ 30 m，内径 0.2 5mm（膜厚 0.25 μm）の HP-5MS（Agilnet）を用いた。

2）結果

市販のコルチゾール約 0.1g から既報の手法に従い TMS 誘導体化処理を行って GC-MS による分析を行ったところ，m/z=605 にコルチゾールの良好なピークを得ることができた。また m/z=100～1000 の範囲で scan 測定による定性分析を行い，コルチゾールの他にステロイドと推定されるものを含む約 50 本のピークが得られ，今回用いた TMS 誘導体化処理によりコルチゾール以外のステロイド類も誘導体化され，GC/MS による測定が行える可能性が示唆された。各ピークそれぞれについてマススペクトル解析を行ったが，同定には至らなかった。

重水素化ラベルを行った d4-コルチゾールを市販コルチゾール試薬を混合したエタノール溶液について同様に TMS 誘導体化処理を行って ID/MS 法による測定を行った。測定は SIM モードにより行い，測定分子イオンはそれぞれ m/z=605（コルチゾール），609（d4-コルチゾール）を選択した。この結果，コルチゾール／d4-コルチゾールの質量比 0.8～1.2 の間で相関係数 0.99 以上と十分な直線性が得られた。しかし，定量限界（S/N=10）が 10^{-5} M 程度と比較的高い値を示した。

（3）液体クロマトグラフィー質量分析（LC-ID/MS）法

1）　実験

質量分析計として Thermoelectron 社製三連四重極型 MS/MS 装置 Quantum Discovery Max を用いた。LC 部は Agilent 社製 1100 システムを用い，インターフェースにはエレクトロンスプレー(ESI)法と大気圧化学イオン化（APCI）法の二種類を用いて両者を比較した。どちらのインターフェースの場合もポジティブモードで測定を行った。カラムには内径 2.0 mm の C30-UG5（野村化学）を用いた。移動相溶媒にはメタノール（LC/MS 用，和光純薬）と Milli-Q システム（ミリポア）により精製された水に各種バッファーを加えたものを用いた。

2）　結果

コルチゾール標品を用いて条件検討を行った。ESI と APCI インターフェースでは感度に顕著な差が見られなかったため，ESI により以降の測定を行った。LC 分離条件について最適化を行い 80％メタノール：20% Milli-Q 水の条件で、良好なピークが得られる事を明らかとした。また ESI インターフェースにおけるイオン化最適条件について検討を行い、定量限界（S/N=10）が 10^{-7} M 以下の濃度であることを確かめた。

標識化合物として、d4-コルチゾールを用いて ID/MS 条件の検討を行った。測定は MS/MS を用いた SRM モードにより行い，測定分子イオンとして m/z=363/121（コルチゾール），367/121（d4-コルチゾール）のセットを用いた。図８にクロマトグラムを示すが 10^{-6}M 程度の濃度において、コルチゾール／d4-コルチゾールの質量比 0.8～1.2 の間で良好なピークが得られ，相関係数 0.99 以上の十分な直線性が得られた。挟み込み法により得られた定量値の再現性は RSD 1 %、調整値から

のずれは 0.5 %であった。

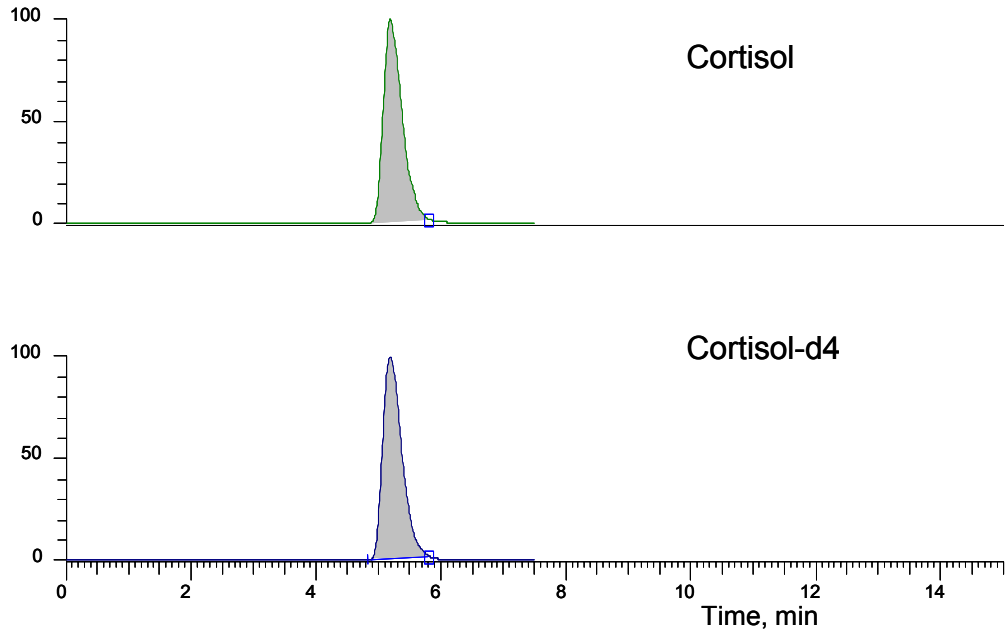


図８　コルチゾールおよび d4 コルチゾールの LC/MS/MS クロマトグラム

（４）まとめ

純度を容易に決定できる高純度品が調製できれば、それに基づいた値付けによる標準物質の開発は技術的には可能であることがわかった。鍵となる課題は、高純度品の純度決定、および、このスキームで標準物質の値付けを行った場合の最終的な不確かさの大きさである。高純度品の調製については、どれくらいの純度のものをどれくらいの量得ることができるかを見極める必要がある。また、高純度品の純度評価は不純物測定を基本とする必要があるため、不純物の同定・定量が不可欠である。また、実際の供給品への値付けについては、値付けの不確かさ等についても検討し、実際の標準物質の供給スキームとして有用であるかどうかの判断を行う必要がある。

２－３－５　今後の課題

平成 19 年度は以下の課題についての検討を行う。

C 反応性蛋白については、これまでの結果を基に標準物質候補品作製のための本格的な作業を行う。

アルブミンに関しては、アルブミン分子の不均質性の質量スペクトルによる評価、および夾雑蛋白質の同定、定量を行い、純度評価の基礎データとする。これらの結果をもとにアミノ酸分析の定量値を精査し、アルブミンの値付け方法のプロトコルを開発、検討する。

コルチゾールに関しては、少量の高純度物質を調製し、これを基準にした値付けによる標準物質開発について要素技術を検討していくことにしたが、高純度品の純度決定および、および、こ

のスキームで標準物質の値付けを行った場合の最終的な不確かさの大きさについても検討し、実際の標準物質の供給スキームとして有用であるかどうかの判断を行う。

参考文献

[1] Liu, F.R.a.T., *Limulin: a C-reactive protein from Limulus polyphemus.* Journal of Biological Chemistry, 1981. **256**: p. 969-975.

２－４　実試料系標準物質の調査研究

２－４－１　総　括

１．調査研究の進め方

平成１７年に設定した項目群ワーキンググループ（WG）により活動した。活動項目は、多くの成果を挙げることを考慮したため報告項目に加え重要な関連項目を加えている。

［調査研究項目群ワーキンググループ一覧表］

WG 名	項目
C3	血清抗核抗体、RF
C4	ジゴキシン、テオフィリン
C5	黄体形成ﾎﾙﾓﾝ、卵胞刺激ﾎﾙﾓﾝ、ｴｽﾄﾗｼﾞｵｰﾙ、ﾌﾟﾛｹﾞｽﾃﾛﾝ、ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ、ﾌﾟﾛﾗｸﾁﾝ
C6	TSH、T3、FT3、T4、FT4、サイログロブリン
C7	ヒト絨毛性ゴナドトロピン
C8	FDP、D ダイマー
C9	CEA、AFP、CA125、CA15-3、CA19-9、ﾌｪﾘﾁﾝ、β２－ﾏｲｸﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ

WGは、基本検討委員会が準備した「実行計画書（暫定）」を基に調査を行った。標準物質候補品が作製可能な場合、実行計画書を完成させ標準物質候補品の作製及び検証実験を実施した。検証実験が出来ない場合は、文献調査として結果を報告した。

＊実行計画書の考え方＊

①各項目を基準１・基準２で調査し分類する。
　基準１：公的標準物質（NIST・WHOなど）の調査
　基準２：純物質・精製物質の入手の可・否の調査

⇩

［標準物質候補品が作製可能な場合］

⇩

②標準物質候補品を作製
③標準物質候補品の評価
　実試料（患者血清・患者尿　など）を用い反応性の確認を行う。

２．結果

調査により標準物質候補品が作製可能と判断した項目は、RF・抗核抗体・ジゴキシン・テオフィリン・エストラジオール・プロラクチン・HCG・TSH・FDP・D ダイマー・CEA・AFP・フェリチンである。標準物質候補品を作製し検証実験を行った。文献調査項目は、FSH・LH・テストステロン・サイログロブリン・T4・T3・FT４・FT3・CA19-9・CA125・CA15-3・β２マイクログロブリンである。各社試薬の調査・各社間の相関・ｻｰﾍﾞｲ結果・標

準化に向けた実行計画・課題について調査した。

以下、結果を示す。

- **RF**：WHO 標準品の補正はできなかった。ｶｯﾄｵﾌ値維持のため健常人ﾊﾟﾈﾙの作製を１９年度に行う。
- **抗核抗体**：WHO・HEPASERA-1 の有効性が確認した。１９年度は、さらに代表的な臨床検体で確認する。
- **ｼﾞｺﾞｷｼﾝ、ﾃｵﾌｨﾘﾝ**：各項目の USB 添加標準物質候補品による収束性は、確認出来なかった。安定性試験を行いｻｰﾍﾞｲ試料としての検討を継続する。
- **ｴｽﾄﾗｼﾞｵｰﾙ(E2)・ﾌﾟﾛﾗｸﾁﾝ**：各項目の抗原添加標準物質候補品を検討したが収束性を確認出来なかった。E2 は１９年度、ID-LC/MS の結果を報告する。
- **黄体形成ﾎﾙﾓﾝ（LH）、卵胞刺激ﾎﾙﾓﾝ（FSH）、ﾌﾟﾛｹﾞｽﾃﾛﾝ、ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ**：
  文献調査項目として報告した。LH・FSH は、標準物質候補品の作製見通しがついたため１９年度、候補品を作製し検討する。
- **甲状腺刺激ﾎﾙﾓﾝ（TSH）**：添加抗原５種・ﾍﾞｰｽ２種の組み合わせで抗原添加標準物質候補品を検討したが、収束性を確認できなかった。
- **ﾄﾘﾖｰﾄﾞｻｲﾛﾆﾝ、遊離ﾄﾘﾖｰﾄﾞｻｲﾛﾆﾝ、ｻｲﾛｷｼﾝ、遊離ｻｲﾛｷｼﾝ（FT4）、ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ**：文献調査項目とした。FT4 は、標準物質候補品の作製見通しがついたため１９年度、候補品を作製し検討する。
- **ﾋﾄ絨毛性ｺﾞﾅﾄﾞﾄﾛﾋﾟﾝ（HCG）**：添加抗原４種・ﾍﾞｰｽ２種の組み合わせで抗原添加標準物質候補品を検討したが、収束性を確認できなかった。
- **βﾋﾄ絨毛性ｺﾞﾅﾄﾞﾄﾛﾋﾟﾝ（β-HCG）**：２社のみであり現在でもよく一致していたため中止とした。
- **FDP、Dﾀﾞｲﾏｰ**：標準物質がないためﾊｰﾓﾅｲｾﾞｰｼｮﾝを目的とし人工標準品で検討したが、収束性を確認できなかった。１９年度、改良人工標準品で検討する。
- **CEA・ﾌｪﾘﾁﾝ・AFP**：各項目の抗原添加標準物質候補品を作製し検討したが、収束性を確認できなかった。
- **CA125、CA19-9、β２-ﾏｲｸﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ**：文献調査項目として報告した。β2-ﾏｲｸﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝは、標準物質候補品の作製見通しがついたため１９年度、候補品を作製し検討する。

３．今後の課題

実験計画書及び標準物質候補品作製は、滞りなく準備できた。しかし標準物質候補品の反応性評価試験に必要な実試料（患者血清・患者尿　など）の入手に多大な時間を要した。これは入手先の倫理委員会の許可が必要だったためである。このため２ヶ月で実験、集計及びまとめを行うという慌ただしい検討となった。実試料および公的標準物質の入手に要する時間を考慮し実験計画を立てる必要がある。

以上より平成19年度調査研究項目群ワーキンググループで実施する項目は以下のとおりである。

［平成１９年度　調査研究項目群ワーキンググループ一覧表］

WG 名	項目
C3	血清抗核抗体、RF
C4	ジゴキシン、テオフィリン
C5	エストラジオール、黄体形成ﾎﾙﾓﾝ、卵胞刺激ﾎﾙﾓﾝ
C6	FT4
C8	FDP、D ダイマー
C9	β２ーﾏｲｸﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ

２－４－２　各　論

２－４－２－１　抗核抗体

要旨

１）抗核抗体検査は、膠原病或いは自己免疫疾患のスクリーニング検査或いはモニタリング検査として行われており、現在ではヒト喉頭癌由来細胞株 HEp-2 細胞を基質とした間接蛍光抗体法が標準的な方法となっている。しかし、蛍光抗体法の判定は使用する蛍光顕微鏡の検出感度の影響を受けること、術者の個人差の影響を受けることから、測定結果にばらつきが生じている。また、抗核抗体検査の陽陰性の判定基準（カットオフ値）は、施設間で統一されていないことから、診療に混乱を招いている。

２）過去に行われた標準化に関する調査研究を確認したところ、ある測定値（抗体力価）を持った患者血清を標準品として測定を行うことにより、施設間、術者間、装置間の差を改善できることが予想された。しかし、現在市販されている試薬間での標準品使用の効果は確認されていなかった。

また、過去の研究では、研究で用いた標準品と WHO 標準品（66/233）[1)]との関係を確認していなかった。

３）各社試薬のデータ評価を同一検体（染色型別、力価別の 8 検体）で実施することにより、実態の確認を行い標準品使用による標準化の効果の確認を実施した。

また、WHO 標準品（66/233）と国内較正物質候補品との関係を確認した。

４）その結果、標準品使用による標準化の効果が確認できた。また、WHO 標準品（66/233）と国内較正物質候補品との関係を確認できた。

１．目的

本調査研究項目群、C3（抗核抗体、RF）の抗核抗体について、各社の試薬の測定値が標準品を使用することで近似することの確認を本調査研究の目的とした。また、国内較正物質候補品と WHO 標準品（66/233）の関係を確認することを目的とした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
責任者	新井次郎	株式会社医学生物学研究所
運営管理者（臨薬協）	山本 茂一	株式会社カイノス
柱 1／C3 担当	嶋本 三利	株式会社三菱化学ヤトロン
技術アドバイザー	熊谷 俊一	神戸大学大学院　教授
技術アドバイザー	小柴 賢洋	兵庫医科大学　教授
技術アドバイザー	桑　 克彦	筑波大学大学院　准教授
技術アドバイザー	森下 芳孝	三重大学病院中央検査部技師長

	氏名	所属
技術担当者	藤本 栄樹	株式会社エイアンドティー
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社
技術担当者	倉持 啓一	株式会社エスアールエル
技術担当者	樋渡 亮二	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	日向　隆	株式会社カイノス
技術担当者	北村 竜太郎	極東製薬工業株式会社
技術担当者	船越 國宏	シスメックス株式会社
技術担当者	根占 哲也	株式会社セロテック
技術担当者	斉藤 憲祐	デイド・ベーリング株式会社
技術担当者	鎌田 祥子	デンカ生研株式会社
技術担当者	高橋 義孝	日水製薬株式会社
技術担当者	松坂 啓之	日東紡
技術担当者	波多野 裕通	株式会社日本凍結乾燥研究所
技術担当者	藤居　賢	日本ﾊﾞｲｵﾗｯﾄﾞﾗﾎﾞﾗﾄﾘｰｽﾞ株式会社
技術担当者	伊東 理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	三好 欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ヤトロン

3．委員会の開催

第１回会合：2005/11/07（月）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/07（水）11：00～13：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/01/17（火）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/03/10（金）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/04/18（火）13：00～14：14　（臨薬協会議室）
第６回会合：2006/08/02（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第７回会合：2006/09/26（火）13：00～15：10　（臨薬協会議室）
第８回会合：2006/12/22（金）15：00～17：00　（三菱化学ヤトロン会議室）

4．調査研究の概要

4－1 測定値の互換性の現状

調査研究に参加した企業にアンケート調査を行った結果、間接蛍光抗体法を用いた抗核抗体の測定試薬を販売している参加メーカー数は 5 社、試薬数は 5 試薬であった。

過去の抗核抗体標準化に関する対応の記録を委員会で調査・確認した結果以下のとおりであった。

① 抗核抗体精度管理（(株) 医学生物学研究所）の結果から、HEp-2 細胞を基質とした間接

蛍光抗体法による抗核抗体検出試薬において、校正物質使用の効果が確認されている。[2)]

② その後、平成 17 年に　厚生労働科学研究補助金　医療技術評価総合研究事業　自己抗体の効率的利用法に関する研究「リウマチ因子、抗核抗体の標準化に関する全国アンケート調査及びサーベイ結果報告」[3)] として報告されている。）

いずれの報告も間接蛍光抗体法による抗核抗体検査において、校正物質の使用による施設間差の改善効果が確認されていた。しかし、試薬間差については評価がされていなかった。

4－2 市販キットのトレーサビリティの現状

各社抗核抗体力価付けの基準は、各社標準品からされており、WHO 標準品（66/233）を基準としているものは無かった。

4－3 試薬間差の要因について

全ての試薬はヒト喉頭癌由来の HEp-2 細胞を用いた間接蛍光抗体法である。また、抗核抗体（ヒト抗体）検出に用いている FITC 標識抗体の特異性も概ね近似している。

現状では全ての試薬キットが各社標準品を基準にしているが、基本的な試薬構成が同じであることから、校正物質による標準化が可能と考えられた。

4－4 標準化に向けた実行計画

4－4－1 実行計画

① 典型的な 4 種の染色型を示す力価の異なる各 2 種の検体を各社試薬で測定し、互換性を評価する。

② 同時に国内校正物質候補品（HEPASERA-1,（株）医学生物学研究所）を測定し、これによる補正値を用いたときの標準化の効果を評価する。

③ また、WHO 標準品（66/233）および国内校正物質候補品の関係を確認する。

④ 国内校正物質候補品に含まれる自己抗体を確認する。

⑤ 委員会でデータを解析し、標準化に向けた方向性を検討する。

4－4－2 実施内容

① 典型的な 4 種の染色型を示す力価の異なる各 2 種の検体を用意した。（表 1）

② 測定は、各参加企業にて行い、それぞれが、自社試薬と他社 1 社の試薬を用いて測定を行った。

③ 操作法は、試薬の添付文書に従い、蛍光顕微鏡、判定基準は各参加企業の方法にて行った。

④ データの解析は参加企業の協力を得て行い、委員会会議にて討議した。

表1　　配布検体

配布検体	染色型	設定力価
ANA-1	nucleolar	160
ANA-2	speckled	160
ANA-3	centromere	40
ANA-4	homonenous	40
ANA-5	nucleolar	40
ANA-6	centromere	160
ANA-7	homonenous	160
ANA-8	speckled	40

４－４－３実施結果

① 各社測定結果の比較（表２、表３）

1 社の結果が大きく乖離し、検出に用いた装置（蛍光顕微鏡）の条件設定が他社と乖離していたことが原因であることが推察された。

② 国内校正物質候補品による補正効果（表４、図１）

補正により、最大 7 管差（力価として 128 倍の差）が 3 管差（力価として 8 倍）に縮小し、校正物質使用により測定環境の差（顕微鏡条件、判定基準)、試薬間差が改善できることが確認された。

③ WHO 標準品（66/233）と国内校正物質候補品の関係（表５）

WHO 標準品と一致する染色型（Homogeneous 型）において、国内校正物質候補品の力価は一致している（平均値±1 管以内と推定）ことが確認された。

表2　使用顕微鏡

	A	B	C	D	E
顕微鏡名称	ニコンOPTIPHOT-2	オリンパスBX51	オリンパスBX50	オリンパスBX51	オリンパスBX50
キューブ名称(フィルタブロック)	B-3A	U-MWIBA2	U-MWIB	U-MWIB2	U-MNIB
励起フィルター	EX420-490	なし	BP460-490	BP460-490	BP470-490
ダイクロイックミラー	DM510	なし	DM505	DM505	DM505
吸収フィルター	BA520	なし	BA515IF	BA510IF	BA510IF
NDフィルター	なし	なし	ND25	ND25　ND6	なし

表3　　力価-報告値

試薬	R1		R2		R3		R4		R5				
測定者	A	B	B	C	D	E	E	C	D	C	最頻値	最小値	最大値
ANA-1	80	1280	1280	160	160	80	80	160	320	160	160	80	1280
ANA-2	320	10240	1280	80	320	160	160	320	320	160	320	80	10240
ANA-3	0	160	320	20	40	40	40	40	40	40	40	0	320
ANA-4	40	640	640	40	40	40	40	80	40	40	40	40	640
ANA-5	20	640	640	40	40	40	40	40	40	40	40	20	640
ANA-6	40	1280	2560	160	160	160	160	320	320	160	160	40	2560
ANA-7	160	2560	2560	160	160	160	160	320	320	160	160	160	2560
ANA-8	80	2560	640	20	80	40	40	160	40	40	40	20	2560

表4　　力価 - HEPASERA-1補正値

試薬	R1		R2		R3		R4		R5				
測定者	A	B	B	C	D	E	E	C	D	C	最頻値	最小値	最大値
ANA-1	40	40	40	160	320	80	80	80	80	80	80	40	320
ANA-2	80	80	160	160	160	80	160	80	80	80	80	80	160
ANA-3	0	20	10	40	40	20	20	20	10	20	20	0	40
ANA-4	40	20	40	40	40	40	40	40	40	40	40	20	40
ANA-5	10	20	20	40	40	40	40	20	20	20	20	10	40
ANA-6	40	160	80	160	320	80	80	80	80	160	80	40	320
ANA-7	160	80	160	160	320	160	160	160	160	160	160	80	320
ANA-8	20	40	40	40	20	20	40	20	20	40	20/40	20	40

図1　　力価ー補正前後の比較

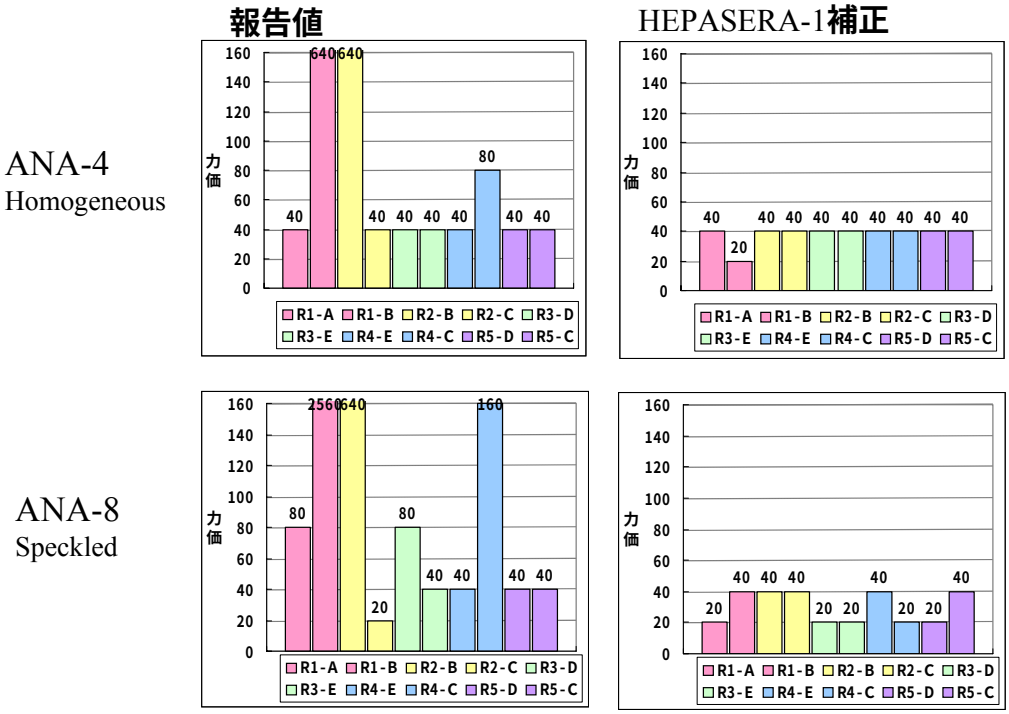


図2　　力価の一致率 (最頻値±1管の%)

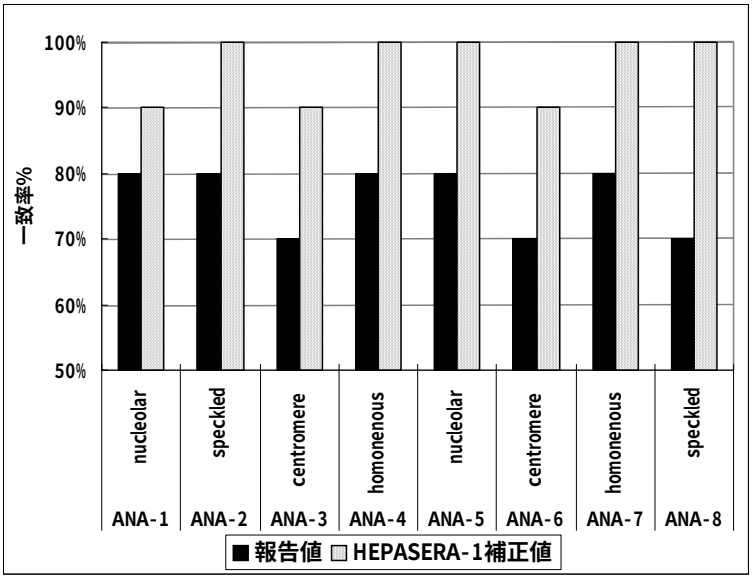
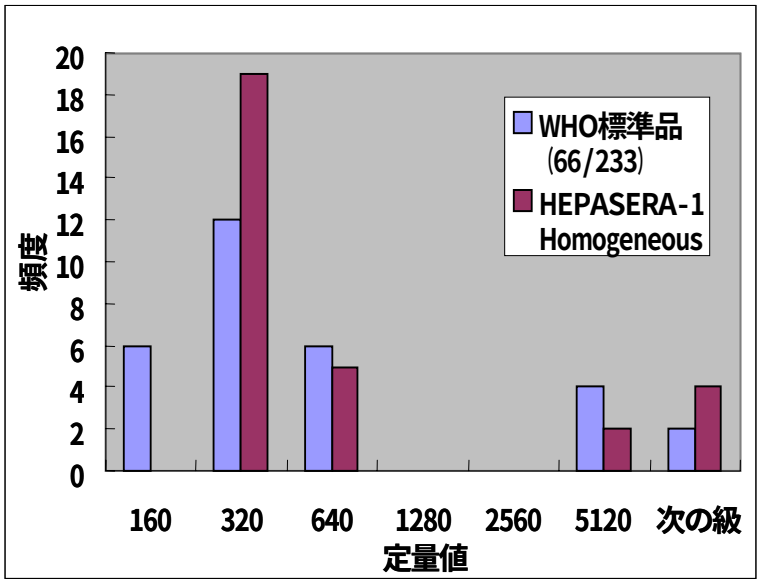


図3　　WHO標準品とHEPASERA-1の関係の確認



５．今後の課題

日常的に臨床検体で遭遇する染色型は複雑なものも多いことから、代表的な自己抗体を含む臨床検体を用いての確認を行う必要があると考えられる。

６．結び

平成 17 年度の調査、平成 18 年度の実験研究において、抗核抗体の標準化の方向性の探求を行い、校正物質の使用により標準化が可能であることを確認できた。

今後は校正物質の作製に向けた具体的作業を、学会、企業団体の協力の基に実行することが望まれる。

参考文献

1) Anderson SG, Addison IE, Dixon HG : Antinuclear-Factor Serum(Homogeneous):An International Collaborative Study of the proposed research standard 66/233. Ann.N.Y.Acad.Sci.177：337-345, 1971

2) 2004 年度自己抗体精度管理報告書　抗核抗体　（株）医学生物学研究所　2005

3) 熊谷俊一：自己免疫検査の効率的利用法の研究。厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）総括研究報告書、平成 16 年度　総括研究報告書　主任研究者　熊谷俊一、p1-21、平成 17 年（2005 年）3 月

２－４－２－２　リウマトイド因子（RF）

要旨

１）リウマトイド因子（rheumatoid factor 以下 RF）は、RA（関節リウマチ）の診断に必須であり、スクリーニング検査或いはモニタリング検査として広く臨床に使用されている。しかし試薬間での測定値の標準化が難しく、各施設の判断基準（カットオフ値）も統一されていないため、誤診や過剰診断など、診療に混乱を招いている。

２）過去に行われた標準化に関する調査研究においては、WHO 標準品[1)]の枯渇という事態を想定した新規標準品の検討作業および実態調査を数度実施しているが、各社測定値の互換性の確保は非常に難しいという評価であった。

３）各社試薬で共通試料（健常者群・RA 群・慢性肝疾患の 3 群を各 200 例づつ）を測定することにより互換性の現状の確認を行い、標準化の方向性を再検討することになり共同実験を実行した。

４）その結果、新たな標準化の方向性を提案することになった。

１．目的

本調査研究項目群、C3（抗核抗体、RF）の RF について、①カットオフ値が共有できること。②一定の測定範囲（例えば 20 U/mL から 100 U/mL）で各社の測定値が近似すること。以上 2 点を達成するためにはどのようにすれば良いか探求することを本調査研究の目的とした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
責任者	島村　朗	株式会社三菱化学ヤトロン
運営管理者（臨薬協）	山本 茂一	株式会社カイノス
柱 1／C3 担当	嶋本 三利	株式会社三菱化学ヤトロン
技術アドバイザー	熊谷 俊一	神戸大学大学院　教授
技術アドバイザー	小柴 賢洋	兵庫医科大学　教授
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院　准教授
技術アドバイザー	森下 芳孝	三重大学病院中央検査部技師長
技術担当者	新井 次郎	株式会社医学生物研究所
技術担当者	藤本 栄樹	株式会社エイアンドティー
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社
技術担当者	倉持 啓一	株式会社エスアールエル
技術担当者	樋渡 亮二	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	日向　隆	株式会社カイノス
技術担当者	北村 竜太郎	極東製薬工業株式会社
技術担当者	船越 國宏	シスメックス株式会社

	氏名	所属
技術担当者	根占 哲也	株式会社セロテック
技術担当者	斉藤 憲祐	デイド・ベーリング株式会社
技術担当者	鎌田 祥子	デンカ生研株式会社
技術担当者	高橋 義孝	日水製薬株式会社
技術担当者	松坂 啓之	日東紡
技術担当者	波多野 裕通	株式会社日本凍結乾燥研究所
技術担当者	藤居　賢	日本ﾊﾞｲｵ・ﾗｯﾄﾞﾗﾎﾞﾗﾄﾘｰｽﾞ株式会社
技術担当者	伊東 理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	三好 欣也	株式会社三菱化学ヤトロン

3．委員会の開催

第1回会合：2005/11/07（月）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第2回会合：2005/12/07（水）11：00～13：00　（臨薬協会議室）
第3回会合：2006/01/17（火）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第4回会合：2006/03/10（金）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第5回会合：2006/04/18（火）13：00～14：14　（臨薬協会議室）
第6回会合：2006/08/02（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第7回会合：2006/09/26（火）13：00～15：10　（臨薬協会議室）
第8回会合：2006/12/22（金）15：00～17：00　（三菱化学ヤトロン会議室）

4．調査研究の概要

4－1 測定値の互換性の現状

調査研究に参加した企業にアンケート調査を行った結果、参加メーカー数と試薬数は 13 社 25 試薬。そのうち、スライド凝集法による肉眼判定（陽性・陰性）が 5 試薬。ラテックス凝集による比ろう法が 2 社 2 試薬、比濁法が 12 社 14 試薬。免疫比濁法（TIA）によるものが 4 社 4 試薬であった。今回の調査研究においては測定値の互換性を取ることが目的であるため、スライド凝集法の 5 試薬は検討対象から除外することとした。

また、過去の RF 標準化に関する対応の記録を委員会で調査・確認した結果以下のとおりであった。

①昭和 63 年 12 月～平成 7 年 1 月で RF 標準化委員会（厚生省「診断用生物学的製剤等基準作成」班）が行われ、平成 9 年 2 月「日本リウマチ学会誌」に「リウマトイド因子測定値の標準化について」[2] として報告されていた。

②その後、リウマチ学会・検査医学会などによって標準化アンケート及びサーベイ検討が実施され各種報告がなされている。（最近では平成 17 年に　厚生労働科学研究補助金医療技術評価総合研究事業　自己抗体の効率的利用法に関する研究「リウマチ因子、抗

核抗体の標準化に関する全国アンケート調査及びサーベイ結果報告」[3,4] として報告されている。）

いずれの報告も抗体検査の測定値の標準化に関する問題点が示されており、各試薬の測定値の互換性を確保することの難しさが確認された。

4－2市販キットのトレーサビリティの現状

各社 RF 値付けの基準は、WHO 標準品「64/1(2)」（1970 年制定）25 IU/mL（4mL での溶解時）より値付けされたものであった。しかし、各社から提示されている参考基準範囲は各々の定義により 5～23 U/mL（スライド凝集法を除く）と幅広く設定されており、上限を 10 もしくは 20 U/mL に設定している試薬が多かった。

4－3キット差の要因について

各試薬に使用されている抗原はヒト由来の IgG（ウサギ IgG を混合使用した試薬もある）を変性した物であるが、担体の有無および製造方法の違いにより測定物である抗体との反応性が異なっていることが想定される。現状では全ての試薬キットが WHO 標準品を基準にしているが、同一の WHO 標準品を用いても各試薬に対する反応性が異なるため、測定値の標準化を難しいものにしていると思われる。

さらに検出系も、ラテックス免疫凝集法や比ろう法、免疫比濁法など様々であり、その影響も考えられる。

4－4標準化に向けた実行計画

4－4－1実行計画

①健常人群、RA 患者群、慢性（肝）疾患群を各社 RF 試薬で測定し、その測定値で参考基準範囲の評価ならびに ROC 解析を行う。

②同時にＷＨＯ標準品および各社のキャリブレーターを測定し、互換性を評価する。

③委員会でデータを解析し、標準化に向けた方向性を検討する。

4－4－2実施内容

①各々の群について 200 例ずつの血清を入手した。（表１）

健常人群は JCCLS で準備した（健常人の定義は公知の基準では入手手配の上で厳しいので、生化学検査で肝機能に異常がない男女　各 100 例を使用した）。

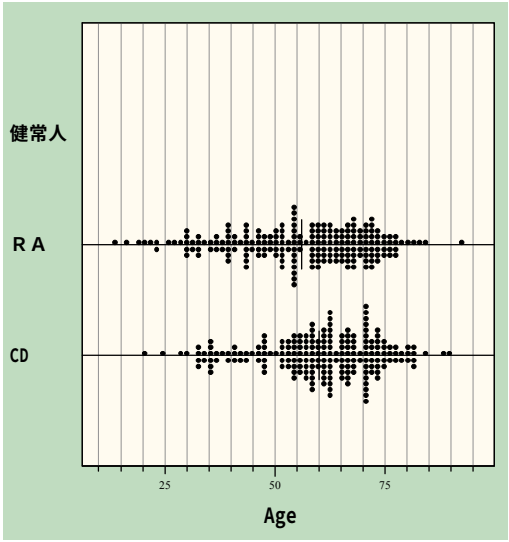
RA 患者群（200 例）、慢性（肝）疾患群（200 例）は神戸大学より提供された。

②各個別検体の量の制限により極力同時測定を行うため、汎用自動分析装置用試薬は、本研究協力企業ラボの日立 7170 型自動分析装置を共通に使用した。

③専用装置用の試薬は、上記協力企業内にあった２装置は汎用試薬と同時に測定し、残りの３装置については各社に検体を配布して測定を行った。

④データの解析は参加企業の協力を得て行い、委員会会議において討議した。

表1　対象の内訳



健常人	女:100名
	男:100名
RA	女:164名
	男: 36名
慢性炎症性疾患	女: 77名
	男:123名

＜年齢分布＞

群名	n	Mean	SD	CV	SE	最小	最大
健常人	200	年齢不明（未調査）					
ＲＡ	200	55.99	15.38	27.47	1.09	14.00	92.00
慢性炎症性疾患	200	60.02	13.31	22.18	0.94	21.00	89.00

４－４－２実施結果

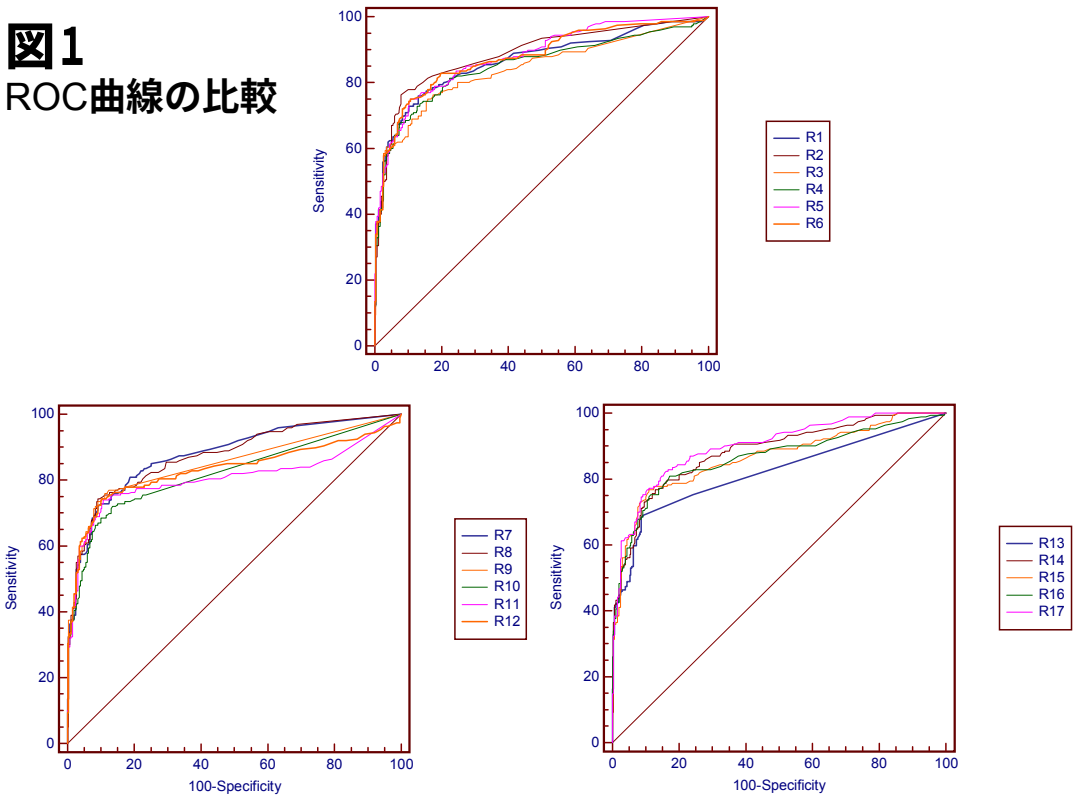
①参考基準範囲の算出ならびに ROC 解析一覧（表２、図１）

ROC 分析により算出した RA 患者群と健常人群を分けるカットオフ値は 1.6～22.0 U/mL、健常人分布からの 95 パーセンタイル値は 4.2～45.5 U/mL と各試薬でかなりのばらつきを認めた。またいずれの値も事前に調査した各社から提示されている参考基準範囲と必ずしも一致せず、基準範囲算出あるいはカットオフ値設定のための方法を厳密に規定することの必要性が委員会会議で議論された。

表2　RF各社試薬基準範囲一覧

			ROCによるcutoff値				各社算出健常値に対する			
No	試薬番号	測定原理	ROC Cut off値	感度 %	特異度 %	健常検体陽性率%	ﾉﾝﾊﾟﾗﾒﾄﾘｯｸ法 (片側上方5%)	健常検体陽性率%	慢性疾患陽性率%	RA群陽性率%
1	R1	LIA	6.8 U/mL	76.0%	87.5%	12.5%	0.0 ～ 22.4 U/mL	5.0	16.5%	62.5%
2	R2	LIA	1.6 U/mL	76.5%	92.0%	8.0%	0.0 ～ 4.2 U/mL	5.0	24.0%	67.0%
3	R3	LIA	4.7 U/mL	74.5%	95.5%	17.0%	0.0 ～ 22.6 U/mL	5.0	15.5%	61.5%
4	R4	LIA	5.7 U/mL	74.5%	85.5%	14.5%	0.0 ～ 14.4 U/mL	5.0	12.0%	60.0%
5	R5	LIA	22.0 U/mL	75.0%	90.0%	10.0%	0.0 ～ 45.5 U/mL	4.5	21.0%	61.5%
6	R6	LIA	11.2 U/mL	75.0%	89.0%	11.0%	0.0 ～ 23.0 U/mL	5.0	13.5%	60.5%
7	R7	LIA	2.5 U/mL	81.0%	82.0%	18.0%	0.0 ～ 18.5 U/mL	5.0	15.5%	57.5%
8	R8	LIA	6.4 U/mL	73.0%	91.0%	9.0%	0.0 ～ 20.5 U/mL	5.0	13.5%	61.0%
9	R9	LIA	1.7 U/mL	76.0%	89.0%	11.0%	0.0 ～ 14.6 U/mL	5.0	13.2%	61.0%
10	R10	TIA	6.3 U/mL	68.5%	92.0%	8.0%	0.0 ～ 17.5 U/mL	5.0	18.0%	58.0%
11	R11	TIA	6.2 U/mL	74.0%	90.0%	10.0%	0.0 ～ 15.3 U/mL	5.0	16.0%	62.0%
12	R12	TIA	9.8 U/mL	74.5%	91.0%	9.0%	0.0 ～ 19.7 U/mL	5.0	20.0%	65.5%
13	R13	LIA	10.0 U/mL	69.4%	91.9%	8.1%	0.0 ～ 37.7 U/mL	5.0	19.6%	51.0%
14	R14	LIA	11.2 U/mL	75.0%	87.5%	12.5%	0.0 ～ 28.2 U/mL	5.0	18.0%	58.0%
15	R15	LIA	10.9 U/mL	74.5%	90.0%	10.0%	0.0 ～ 17.6 U/mL	5.0	11.0%	60.5%
16	R16	NIA	7.0 U/mL	78.0%	83.5%	16.5%	0.0 ～ 16.7 U/mL	5.0	11.0%	57.5%
17	R17	LIA	5.8 U/mL	79.0%	86.0%	14.0%	0.0 ～ 18.1 U/mL	5.0	15.5%	61.5%

図1
ROC曲線の比較



②各社試薬による WHO 標準品希釈列の測定（図２）

各社の各試薬とも、例外はあるものの表示値にほぼ近い値で測定されていた。

③各社試薬間相関（図３）

WHO 標準品で補正しても全ての試薬の相関関係が改善されることはなく、WHO 標準品を基準とすることに無理があることが示された。

各社のキャリブレーターにも標準化の候補品として上げられるものは無かった。

しかし、ラテックス免疫比濁法（LIA）同士または免疫比濁法（TIA）同士など、一部の試薬に限定すれば、WHO 標準品による補正でカットオフ値の共有化とともに一定の範囲での測定値を近似させることが出来る可能性も示唆された。

図2
各社試薬のWHO測定値

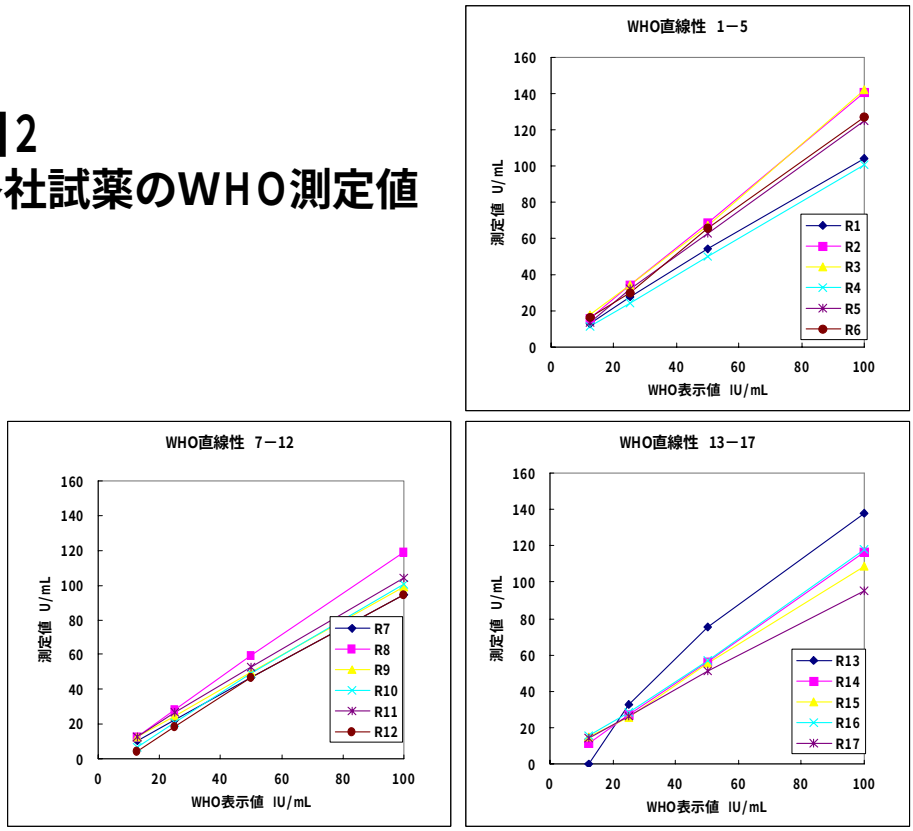
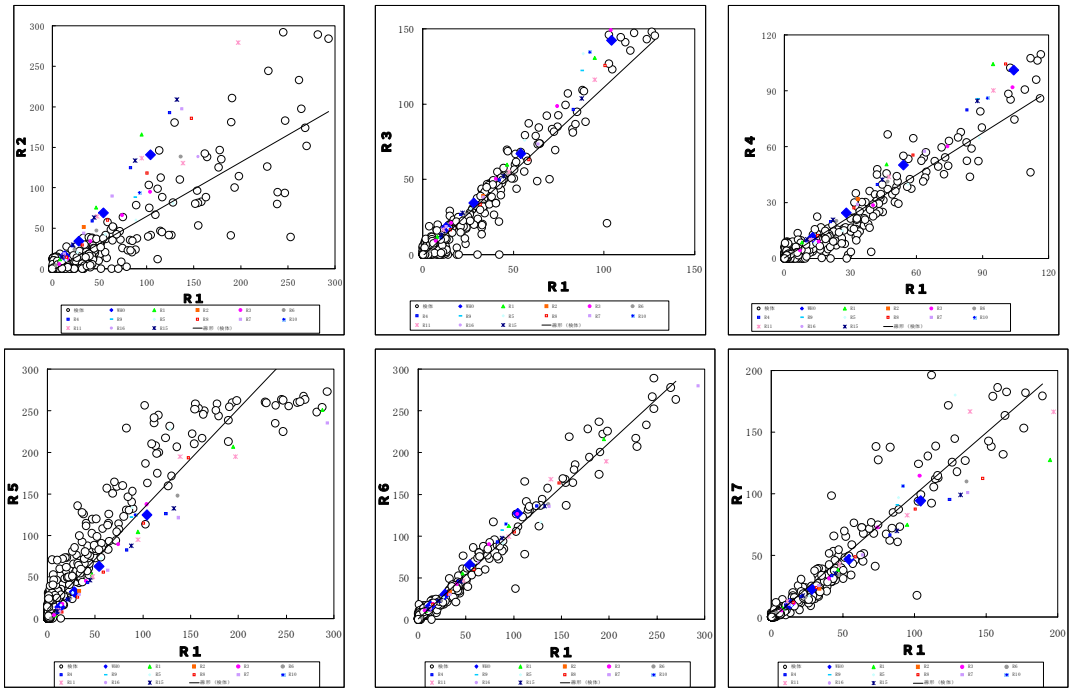


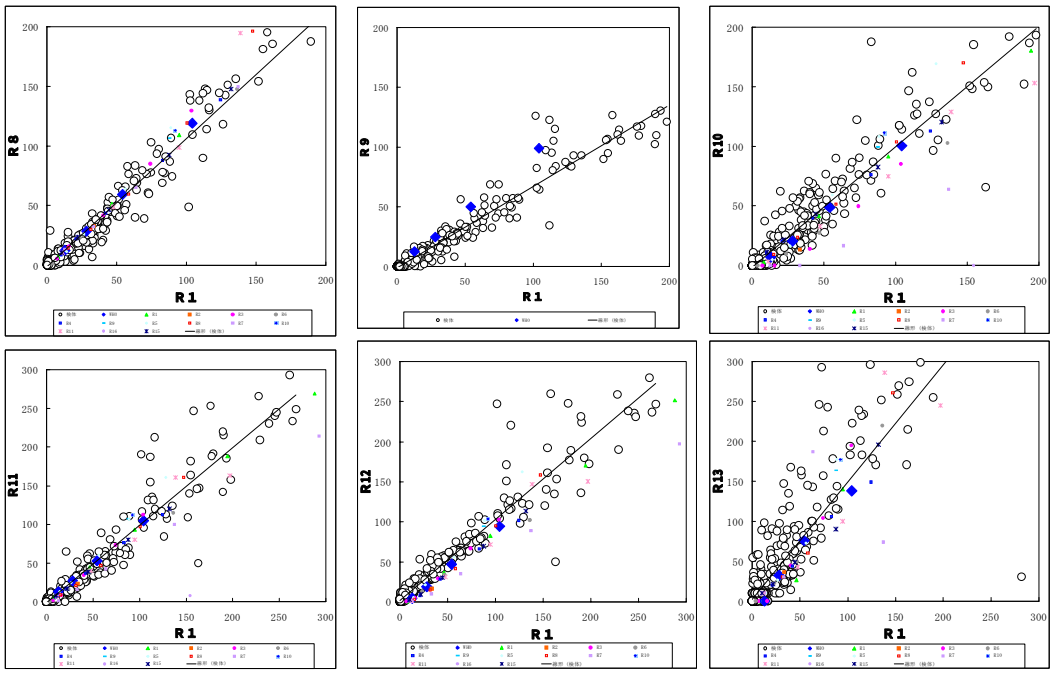
図3　各試薬間　相関（一部）1

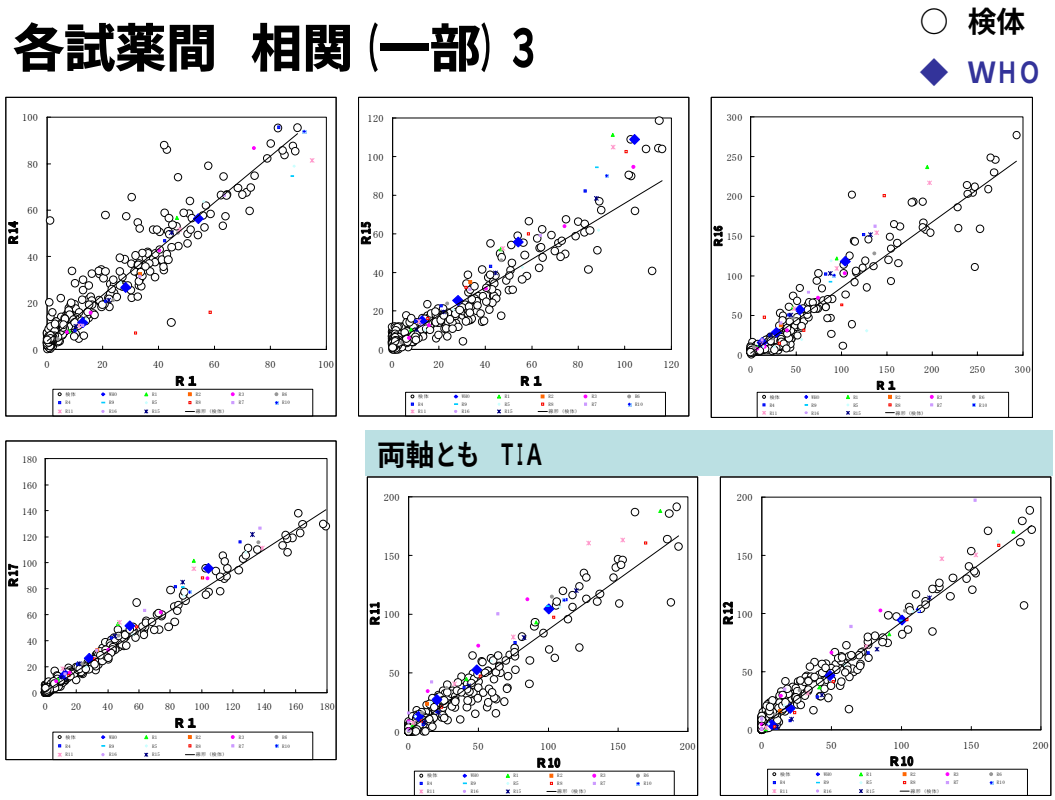
○ 検体
◆ WHO



各試薬間　相関（一部）2

○ 検体
◆ WHO





5．今後の課題

単一基準物質を用いての標準化は不可能に近いが、健常群や疾患群を用意し測定することにより、臨床的に最も重要なカットオフ値を共有化しうることが示された（新しい標準化の考え）。カットオフ値については、健常群での陽性率5%を共通の値（暫定的に20 U/mL）とする。その上で、一定の範囲（例えば20 U/mL～100U/mL）まではWHO標準品（あるいは臨床プール血清）を用いて補正をかけることにより、測定値を近似させられるものもあった。

この実現化に向けて、より厳格に健常検体群を選ぶこと、カットオフ値の維持のための健常人パネルの作成、一定の範囲での測定値を近似させるためのWHO標準品に基づく臨床プール血清（準拠品）の作成、が必要である。

6．結び

平成 17 年度の調査、平成 18 年度の実験研究において、RF の標準化の方向性の探求を行い、新たな標準化の考え方を提案するに至った。今後はこの考え方を実行するための具体的作業を、学会、企業団体の協力の基に実行することが望まれる。

参考文献

1）Anderson SG, Bentzon MW, Houba V et al : International Reference Preparation of rheumatoid arthritis serum. Bull WHO 42 : 311-318, 1970

2）吉野田定美　他 : リウマトイド因子測定値の標準化について、リウマチ 36(6) : 819-829, 1996

3）大田俊行 : リウマトイド因子測定値の標準化に向けての基礎的検討。厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）分担研究報告書、平成 16 年度　総括研究報告書　主任研究者　熊谷俊一、pp29-32、平成 17 年（2005 年）3 月

4）熊谷俊一 : 自己免疫検査の効率的利用法の研究。厚生労働科学研究費補助金（医療技術評価総合研究事業）総括研究報告書、平成 16 年度　総括研究報告書　主任研究者　熊谷俊一、pp1-21、平成 17 年（2005 年）3 月

２－４－２－３　ジゴキシン

要旨

1）ジゴキシン標準物質を用いて実試料標準物質候補品を調製し、それを測定して市販キットの測定値の収束性について検証することを目的とした。

2）ジゴキシン測定キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループ（WG）を設け、キット、キャリブレーター、トレーサビリティ等の調査を実施した。各企業は米国薬局方（USP）ジゴキシン（以下 USP ジゴキシン）を上位標準としたトレーサビリティ体系をとっていることがわかった。

3）今回、キットの互換性の調査および実試料系標準物質候補品の測定値の収束性について検討した。実試料系標準物質候補品は、USP ジゴキシンをジゴキシンが投与されていないヒト血清に添加して作製した。

4）各キット間の測定値の収束性は，相関係数および回帰式より検証した。また、実試料系標準物質候補品の補正効果を相関図における実検体の分布と比較することで検証した。

5）その結果、各キット間の測定値の相関係数は良好であり、実試料系標準物質候補品の理論濃度と、各キット測定値より求めた補正値を用いることで、測定値の収束性効果が確認できた。しかし USP ジゴキシンの純度が不明のため実試料候補品の理論濃度だけで値を決定することの、是非を検討する必要がある。

6）市販測定試薬以外の測定法が無いため正確さの指標となる上位の基準測定方法が存在しない。

7）結論は、本実試料系標準物質候補品では提唱されている施設間の許容ばらつき範囲内に収束できなかった。

そこで本候補品の安定性を確認し、サーベイ試料としての可能性を確認する。

１．目的

本調査研究項目群、C4-WG（ジゴキシン、テオフィリン）内のジゴキシンについて、「純物質を添加した標準物質候補品を調製・使用し、各社キットのデータの収束性について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

本委員会は、調査研究項目群の柱１C4-WGで、メンバーの構成を下記に記す。なおWG発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は18年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	西川　隆	共立薬科大学
アドバイザー	桑　克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
柱１担当	大和　隆	協和メデックス株式会社

	氏名	所属
責任者	樋渡亮二	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
運営管理者（臨薬協）	細井健二	第一化学薬品株式会社
技術担当者	高 瑛姫	アボットジャパン株式会社
技術担当者	早川恒一郎	株式会社三菱化学ヤトロン
技術担当者	藤井淳一	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	横田敦子	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	吉海　毅	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

3．委員会の開催

第１回会合：2005/11/09（水）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/14（水）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/06/14（水）15：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/08/11（金）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/11/21（火）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）

4．調査研究の概要

4－1 測定値の互換性の現状

1） 現状の調査

①官報で指定されるキャリブレーター

厚生労働省告示第 120 号では、薬事法第 14 条第 1 項の規定により厚生労働大臣が基準を定めて指定する体外診断用医薬品の校正用として、以下の２品目が指定されている。

(1)　米国薬局方（USP）

(2)　日本公定書協会標準品（旧国立医薬品食品衛生研究所）

②市販されている標準物質

参加企業にアンケート調査を実施した結果、日本におけるジゴキシンの標準物質としては、米国薬局方（USP）が存在した。

各キットの上位標準物質の一覧を以下に示した。

上位標準物質	件数	キット
日本公定書協会標準品	0	
米国薬局方（USP）	8	A,C,D,F,E,G,H,I
自家調製品	1	B

③精度管理試料でのキット間差の実態調査

2005 年度に実施された第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ成績報告（表. 1）によると、全て non-RI 法で１３種類のキットがあり 58 施設の参加があった。キット内の変動係数 CV（%）は、試料 1 は、14.2%、試料 2 は 7.1%であった。キット間の変動係数 CV（%）は、試料 1 は、11.7%、試料 2 は 9.8%であった。

２）標準物質候補品のための実験

公的標準品として 米国薬局方(USP)があり入手可能である。

実験計画書（暫定）の分類では公的標準物質が存在し安定的に入手可能な純物質が存在する項目に分類される。

ジゴキシンにおけるキット間測定値の互換性に関するデータが無い為、各キットの互換性の調査および WG 作製の純物質を添加した実試料標準物質候補品と実血清検体を使用した収束性のシミュレーションを実施した。

実試料系標準物質候補品を作成するにあたって、溶解性の調査を行い精製水に溶解しジゴキシンが含まれていないプール血清に溶解した。

ジゴキシンの理論濃度は、基準範囲およびキットの測定範囲を考慮し
0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 ng/mL に調製した。

＜溶解方法＞

USP Digoxin (Catalog No.1200000) を正確に ５０．０mg 秤量し、４０%エタノー溶解して、１００mLにメスアップした。(５００μg/mL)

⇩

１０%エタノールで１００倍に希釈し、５μg/mLの濃度のものを調製

⇩

精製水でさらに１００倍に希釈し、５０ng/mLに調製

⇩

プール血清にて5倍に希釈し、１０ng/mLの濃度のものを得た

⇩

それをプール血清と以下のような比率で混合し、ターゲット濃度に調製

	0.5	1.0	2.0	3.0	ng/mL
10ng/mL Std.	5	10	20	30	
Pool Serum	95	90	80	70	

調製した標準物質候補品と実血清検体１０検体を WG 参加施設 8 社（9 キット）に送付し測定を依頼した。

なお、検討に用いた実血清検体は、「ＪＣＣＬＳ標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解（2006 年 1 月 10 日)」に従って配布した。

各キットの測定結果の集計方法は、以下のとおりに行った。

＜集計方法＞

４点補正：0.5、1.0、2.0、3.0ng/mL

① 重量法・平均値の傾き、傾き＋切片による補正

３点補正：1.0、2.0、3.0 ng/mL の３点

② 重量法・平均値の傾きによる補正

（表.２）

＜結果＞

各キットの測定プロトコルに従い、各キット指定のキャリブレーターでキャリブレーションを行ってから実血清検体のジゴキシン濃度を求めた。測定値の相関を集計したところキット間の傾きは 0.677～1.34 だった。

標準物質候補品の測定値は、「全体平均（0 濃度を含む）の傾きと切片により補正」が一番良好だった。しかし、0 濃度は測定感度以下である点、切片を含まない傾きだけによる補正が望ましい点、重量法による値の決定方法は普遍性が高い点、以上のことから「４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、０濃度を除く）の傾きによる補正」が有効であるとした。補正後の相関の解析は、各測定系の精密さの高い 1.0ng/mL 以上の検体に対して解析を行った、その結果傾きも 0.813～1.193 に収束した。（表.３－１、３－２）。

＜考察＞

ジゴキシンにおける測定値の互換性に関するデータを評価したが、現状でもキット間で大きく乖離する検体は無く、相関係数としては良好なものであった。４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、0 濃度を除く）の傾きによる補正がより有効な方法であることが確認できた。

４－２標準化および標準物質の設定経過

４－１の結果に基づき、純物質を添加した標準物質による測定値の収束性の効果が確認できた。今後、純物質として用いた USP ジゴキシンの純度を検討することが必要と考える。

４－３値付けの測定方法の選択

基準測定操作法の候補は、現在のところ無い。

５．標準物質の設定概要

今後の検討が必要である。

６．標準物質の作製プロトコル

今後の検討が必要である。

７．今後の課題

平成 18 年度は、純物質を添加した標準物質の検討において、各キットの共通標準品とした場合、４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、０濃度を除く）の傾きにより測定結果を補正した場合が有効であるという結果だった。今後は、USP ジゴキシンの純度に関しての検討が必要である。

８．結び

平成 18 年度の研究において、ジゴキシンの標準物質候補品を用いて添加試料の作成を行い、かつシミュレーションによる検証を行った結果、現状でも収束していることが確認され、さらに標準物質候補品を用いて補正を行うことにより、収束性の改善が可能であることが確認できた。しかし、Glick による施設間の許容ばらつき範囲として提案*)されている CV%＝6.0%を許容することはできなかった。

提唱されている収束性は達成できなかったが、標準物質候補品を使用することで、現状の収束性の確認ができることが示唆されたため、今後は作成した標準品の安定性試験を継続し、サーベイ試料として使用できないものか検討を継続することとする。

*) BW.Steele et al. Arch Pathol　Lab Med 2001; 125:729-735

表．１　イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ

キット	試料A-1 平均値	試料A-2 平均値	各社キット/ 平均値（A-1）	各社キット/ 平均値（A-2）
a	0.57	2.99	91%	90%
b	0.51	2.88	81%	87%
c	0.57	3.05	91%	92%
d	0.63	3.23	100%	97%
e	0.50	2.96	80%	89%
f	0.55	3.19	88%	96%
g	0.65	3.58	104%	108%
h	0.80	4.10	127%	124%
i	0.57	3.87	91%	117%
j	0.65	2.96	104%	89%
k	0.70	3.65	112%	110%
l	0.84	3.60	134%	109%
m	0.62	3.01	99%	91%
平均値	0.63	3.31		

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

表．２　ジゴキシン標準物質候補品の補正方法の検討

1,標準物質候補品の測定結果　(ng/dL)

	0.0	0.5	1.0	2.0	3.0	重量法（スパイク理論値を基点） 0濃度を除いた傾き	補正係数	全体平均を基点 0濃度を除いた傾き	補正係数
A	0.074	0.608	1.158	2.338	3.158	1.034	0.967	0.954	1.048
B	0.114	0.582	1.104	2.556	3.656	1.259	0.794	1.161	0.861
C	0.176	0.658	1.256	2.340	3.322	1.063	0.941	0.980	1.020
D	0.000	0.588	1.238	2.504	3.424	1.142	0.876	1.054	0.949
E	0.282	0.717	1.233	2.439	3.425	1.097	0.912	1.012	0.988
F	0.050	0.550	0.947	1.840	2.987	0.973	1.028	0.894	1.119
G	0.162	0.580	1.032	2.060	3.064	1.000	1.000	0.921	1.086
H	0.112	0.582	1.084	2.218	3.370	1.121	0.892	1.032	0.969
I		0.590	1.206	2.276	3.306	1.080	0.926	0.995	1.005
平均	0.121	0.606	1.140	2.286	3.301				
SD	0.0867	0.0507	0.1059	0.2248	0.2052				
CV%	71.7	8.4	9.3	9.8	6.2				

1-2,重量法をもとに校正した標準物質候補品の測定結果　(ng/dL)

	0.00	0.50	1.00	2.00	3.00
A	0.072	0.588	1.120	2.261	3.054
B	0.091	0.462	0.877	2.029	2.903
C	0.166	0.619	1.182	2.202	3.126
D	0.000	0.515	1.084	2.194	2.999
E	0.257	0.654	1.124	2.224	3.124
F	0.051	0.565	0.974	1.892	3.071
G	0.162	0.580	1.032	2.060	3.064
H	0.100	0.519	0.967	1.978	3.006
I		0.546	1.117	2.108	3.061
平均	0.112	0.561	1.053	2.105	3.045
SD	0.0801	0.0581	0.0978	0.1250	0.0688
CV%	71.5	10.4	9.3	5.9	2.3

1-3,平均値をもとに校正した標準物質候補品の測定結果　(ng/dL)

	0.00	0.50	1.00	2.00	3.00
A	0.078	0.637	1.214	2.450	3.310
B	0.098	0.501	0.951	2.201	3.148
C	0.180	0.671	1.281	2.387	3.388
D	0.000	0.558	1.175	2.376	3.249
E	0.279	0.708	1.218	2.410	3.384
F	0.056	0.615	1.060	2.059	3.342
G	0.176	0.630	1.121	2.237	3.328
H	0.109	0.564	1.050	2.149	3.266
I		0.593	1.212	2.287	3.323
平均	0.122	0.609	1.142	2.284	3.304
SD	0.0868	0.0628	0.1052	0.1325	0.0748
CV%	71.1	10.3	9.2	5.8	2.3

1-4,重量法をもとに（傾き、切片）校正した標準物質候補品の測定結果　(ng/dL)

	0.00	0.50	1.00	2.00	3.00
A	-0.060	0.456	0.988	2.129	2.922
B	0.147	0.518	0.933	2.085	2.959
C	0.009	0.462	1.025	2.045	2.969
D	-0.072	0.443	1.012	2.122	2.927
E	0.102	0.499	0.969	2.069	2.969
F	0.050	0.564	0.973	1.891	3.070
G	0.103	0.521	0.973	2.001	3.005
H	0.107	0.526	0.974	1.985	3.013
I		0.463	1.034	2.025	2.978
平均	0.048	0.495	0.987	2.039	2.979
SD	0.08	0.04	0.03	0.07	0.05
CV%	170.4	8.2	3.2	3.7	1.5

1-5,平均値をもとに（傾き、切片）校正した標準物質候補品の測定結果　(ng/dL)

	0.00	0.50	1.00	2.00	3.0
A	0.008	0.567	1.144	2.380	3.240
B	0.230	0.633	1.083	2.333	3.280
C	0.080	0.571	1.181	2.287	3.288
D	-0.007	0.551	1.168	2.369	3.242
E	0.181	0.610	1.120	2.312	3.286
F	0.121	0.680	1.125	2.124	3.407
G	0.180	0.634	1.125	2.241	3.332
H	0.185	0.640	1.126	2.225	3.342
I		0.572	1.191	2.266	3.302
平均	0.122	0.607	1.140	2.282	3.302
SD	0.09	0.04	0.03	0.08	0.05
CV%	72.0	7.2	3.0	3.5	1.6

1-6,重量法をもとに（傾きのみ）3点校正した標準物質候補品の測定　(ng/dL)

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.07	0.61	1.16	2.34	3.16
B	0.09	0.46	0.87	2.00	2.87
C	0.17	0.64	1.22	2.27	3.22
D	0.00	0.54	1.13	2.29	3.13
E	0.26	0.65	1.12	2.22	3.12
F	0.05	0.54	0.93	1.80	2.93
G	0.16	0.57	1.02	2.03	3.01
H	0.10	0.51	0.95	1.94	2.95
I	0.00	0.56	1.15	2.17	3.15
平均	0.10	0.56	1.06	2.12	3.06
SD	0.08	0.06	0.12	0.18	0.12
CV%	84.1	11.1	11.6	8.6	4.0

1-7,平均値をもとに（傾きのみ）校正した標準物質候補品の測定結　(ng/dL)

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.08	0.66	1.25	2.52	3.40
B	0.10	0.49	0.93	2.16	3.09
C	0.18	0.69	1.31	2.45	3.47
D	0.00	0.58	1.22	2.47	3.38
E	0.28	0.71	1.21	2.40	3.37
F	0.05	0.59	1.01	1.96	3.18
G	0.17	0.62	1.10	2.19	3.26
H	0.11	0.55	1.03	2.10	3.19
I	0.00	0.61	1.24	2.34	3.41
平均	0.11	0.61	1.15	2.29	3.31
SD	0.09	0.07	0.13	0.19	0.13
CV%	84.1	11.1	11.5	8.4	3.9

表．３－１　実検体の補正効果（相関）

2-1.TDM検体(実測値)

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9823	0.9497	0.9420	0.9732	0.9704	0.9867	0.9907	0.9420	1.0000
	1.000	1.083	0.892	0.986	1.038	0.765	0.942	1.015	0.765	1.083
	0.000	-0.141	0.313	0.035	0.094	0.044	0.010	-0.079	-0.141	0.313
B	0.9823	1.0000	0.9420	0.9326	0.9521	0.9479	0.9882	0.9632	0.9326	1.0000
	0.891	1.000	0.802	0.885	0.921	0.677	0.863	0.894	0.677	1.000
	0.189	0.000	0.468	0.209	0.297	0.195	0.152	0.129	0.000	0.468
C	0.9497	0.9420	1.0000	0.9427	0.9506	0.9752	0.9787	0.9340	0.9340	1.0000
	1.011	1.106	1.000	1.050	1.079	0.818	0.983	1.018	0.818	1.106
	-0.140	-0.314	0.000	-0.207	-0.109	-0.150	-0.207	-0.207	-0.314	0.000
D	0.9420	0.9326	0.9427	1.0000	0.9799	0.9704	0.9823	0.9515	0.9326	1.0000
	0.900	0.982	0.846	1.000	0.998	0.730	0.886	0.931	0.730	1.000
	0.171	0.030	0.388	0.000	0.156	0.098	0.086	0.062	0.000	0.388
E	0.9732	0.9521	0.9506	0.9799	1.0000	0.9930	0.9909	0.9717	0.9506	1.0000
	0.912	0.985	0.837	0.962	1.000	0.733	0.876	0.933	0.733	1.000
	0.010	-0.123	0.276	-0.077	0.000	-0.019	-0.035	-0.084	-0.123	0.276
F	0.9704	0.9479	0.9752	0.9704	0.9930	1.0000	0.9925	0.9867	0.9479	1.0000
	1.232	1.327	1.163	1.290	1.344	1.000	1.188	1.257	1.000	1.344
	0.051	-0.076	0.268	-0.021	0.053	0.000	-0.008	-0.038	-0.076	0.268
G	0.9867	0.9882	0.9787	0.9823	0.9909	0.9925	1.0000	0.9840	0.9787	1.0000
	1.034	1.132	0.975	1.090	1.121	0.829	1.000	1.048	0.829	1.132
	0.036	-0.130	0.282	-0.030	0.075	0.028	0.000	-0.047	-0.130	0.282
H	0.9907	0.9632	0.9340	0.9515	0.9717	0.9667	0.9840	1.0000	0.9340	1.0000
	0.967	1.037	0.857	0.973	1.012	0.744	0.924	1.000	0.744	1.037
	0.110	-0.004	0.422	0.110	0.194	0.121	0.097	0.000	-0.004	0.422
								r	0.933	1.000
								傾き	0.677	1.344

2-3. 平均値をもとに校正した血清の測定結果

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9497	0.9497	0.9420	0.9732	0.9704	0.9867	0.9907	0.9420	1.0000
	1.000	0.733	0.869	0.893	0.979	0.816	0.976	0.938	0.733	1.000
	0.000	0.270	0.320	0.033	0.093	0.049	0.011	-0.077	-0.077	0.320
B	0.9497	1.0000	1.0000	0.9427	0.9506	0.9752	0.9787	0.9340	0.9340	1.0000
	1.230	1.000	1.185	1.158	1.238	1.063	1.239	1.146	1.000	1.239
	-0.147	0.000	0.000	-0.196	-0.108	-0.168	-0.224	-0.201	-0.224	0.000
C	0.9497	1.0000	1.0000	0.9427	0.9506	0.9752	0.9787	0.9340	0.9340	1.0000
	1.038	0.844	1.000	0.977	1.045	0.897	1.046	0.967	0.844	1.046
	-0.147	0.000	0.000	-0.196	-0.108	-0.168	-0.224	-0.201	-0.224	0.000
D	0.9420	0.9427	0.9427	1.0000	0.9799	0.9704	0.9823	0.9515	0.9420	1.0000
	0.994	0.768	0.909	1.000	1.039	0.861	1.013	0.950	0.768	1.039
	0.179	0.334	0.396	0.000	0.153	0.110	0.093	0.060	0.000	0.396
E	0.9732	0.9506	0.9506	0.9799	1.0000	0.9930	0.9909	0.9717	0.9506	1.0000
	0.968	0.730	0.865	0.924	1.000	0.831	0.963	0.915	0.730	1.000
	0.010	0.239	0.282	-0.073	0.000	-0.022	-0.038	-0.081	-0.081	0.282
F	0.9704	0.9752	0.9752	0.9704	0.9930	1.0000	0.9925	0.9867	0.9667	1.0000
	1.154	0.895	1.060	1.094	1.187	1.000	1.153	1.088	0.895	1.187
	0.053	0.231	0.273	-0.020	0.053	0.000	-0.009	-0.036	-0.036	0.273
G	0.9867	0.9787	0.9787	0.9823	0.9909	0.9925	1.0000	0.9840	0.9787	1.0000
	0.998	0.773	0.916	0.963	1.020	0.854	1.000	0.935	0.773	1.020
	0.038	0.243	0.289	-0.029	0.074	0.031	0.000	-0.046	-0.046	0.289
H	0.9907	0.9340	0.9340	0.9515	0.9717	0.9667	0.9840	1.0000	0.9340	1.0000
	1.046	0.761	0.902	0.963	1.032	0.859	1.036	1.000	0.761	1.046
	0.115	0.364	0.431	0.105	0.192	0.135	0.105	0.000	0.000	0.431
								r	0.934	1.000
								傾き	0.730	1.239

2-2. 重量法をもとに校正した血清の測定結果

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9823	0.9497	0.9420	0.9732	0.9704	0.9867	0.9907	0.9420	1.0000
	1.000	0.890	0.868	0.894	0.979	0.813	0.974	0.936	0.813	1.000
	0.000	-0.112	0.295	0.030	0.086	0.045	0.010	-0.071	-0.112	0.295
B	0.9823	1.0000	0.9420	0.9326	0.9521	0.9479	0.9882	0.9632	0.9326	1.0000
	1.095	1.000	0.951	0.977	1.057	0.877	1.086	1.005	0.877	1.086
	0.183	0.000	0.440	0.183	0.271	0.201	0.152	0.115	0.000	0.440
C	0.9497	0.9420	1.0000	0.9427	0.9506	0.9752	0.9787	0.9340	0.9340	1.0000
	1.039	0.933	1.000	0.978	1.046	0.893	1.044	0.965	0.893	1.046
	-0.136	-0.249	0.000	-0.181	-0.100	-0.154	-0.207	-0.185	-0.249	0.000
D	0.9420	0.9326	0.9427	1.0000	0.9799	0.9704	0.9823	0.9515	0.9326	1.0000
	0.993	0.890	0.909	1.000	1.039	0.857	1.010	0.948	0.857	1.039
	0.166	0.024	0.365	0.000	0.141	0.101	0.086	0.056	0.000	0.365
E	0.9732	0.9521	0.9506	0.9799	1.0000	0.9930	0.9909	0.9717	0.9506	1.0000
	0.967	0.857	0.864	0.924	1.000	0.827	0.960	0.913	0.827	1.000
	0.009	-0.098	0.260	-0.068	0.000	-0.020	-0.035	-0.075	-0.098	0.260
F	0.9704	0.9479	0.9752	0.9704	0.9930	1.0000	0.9925	0.9867	0.9479	1.0000
	1.159	1.025	1.065	1.099	1.193	1.000	1.156	1.090	1.000	1.193
	0.049	-0.060	0.252	-0.019	0.049	0.000	-0.008	-0.033	-0.060	0.252
G	0.9867	0.9882	0.9787	0.9823	0.9909	0.9925	1.0000	0.9840	0.9787	1.0000
	1.000	0.899	0.917	0.965	1.022	0.862	1.000	0.936	0.862	1.022
	0.035	-0.103	0.266	-0.027	0.069	0.029	0.000	-0.042	-0.103	0.266
H	0.9907	0.9632	0.9340	0.9515	0.9717	0.9667	0.9840	1.0000	0.9340	1.0000
	1.049	0.923	0.904	0.966	1.036	0.867	1.036	1.000	0.867	1.049
	0.106	-0.003	0.397	0.097	0.177	0.124	0.097	0.000	-0.003	0.397
								r	0.933	1.000
								傾き	0.813	1.193

表．３－２　実検体の補正効果（各実検体のＣＶ）

2-1.TDM検体(実測値)

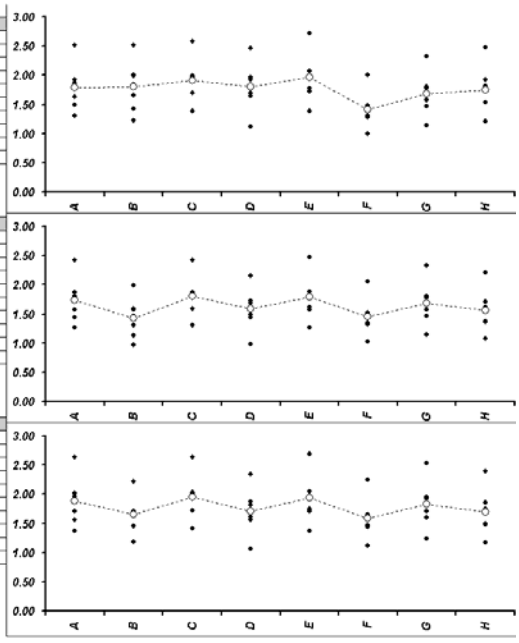
ブロキシン	A	B	C	D	E	F	G	H	I	平均値	SD	CV%
1												
2	2.51	2.51	2.58	2.46	2.72	2.00	2.33	2.47		**2.448**	**0.211**	**8.6%**
3	1.83	1.99	1.99	1.92	2.07	1.48	1.80	1.72		**1.850**	**0.188**	**10.1%**
4												
5												
6	1.31	1.22	1.38	1.12	1.39	1.00	1.14	1.21		**1.222**	**0.135**	**11.1%**
7	1.93	2.00	1.89	1.83	1.95	1.39		1.92	2.07	**1.873**	**0.207**	**11.0%**
8	1.49	1.42	1.69	1.70	1.78	1.28	1.47	1.53		**1.545**	**0.165**	**10.7%**
9	1.87	1.84	1.92	1.97	2.07	1.45	1.77	1.81		**1.837**	**0.184**	**10.0%**
10	1.63	1.65	1.96	1.64	1.72	1.31	1.57	1.54		**1.620**	**0.183**	**11.2%**

2-2. 重量法をもとに校正した血清の測定結果

ブロキシン	A	B	C	D	E	F	G	H	I	平均値	SD	CV%
1												
2	2.43	1.99	2.43	2.15	2.48	2.06	2.33	2.20		**2.260**	**0.184**	**8.1%**
3	1.77	1.58	1.87	1.68	1.89	1.52	1.80	1.53		**1.706**	**0.147**	**8.6%**
4												
5												
6	1.27	0.97	1.30	0.98	1.27	1.03	1.14	1.08		**1.129**	**0.135**	**12.0%**
7	1.87	1.59	1.78	1.60	1.78	1.43		1.71	1.92	**1.680**	**0.161**	**9.6%**
8	1.44	1.13	1.59	1.49	1.62	1.32	1.47	1.36		**1.428**	**0.158**	**11.1%**
9	1.81	1.46	1.81	1.73	1.89	1.49	1.77	1.61		**1.684**	**0.157**	**9.3%**
10	1.58	1.31	1.84	1.44	1.57	1.34	1.57	1.37		**1.503**	**0.175**	**11.7%**

2-3. 平均値をもとに校正した血清の測定結果

ブロキシン	A	B	C	D	E	F	G	H	I	平均値	SD	CV%
1												
2	2.63	2.22	2.63	2.33	2.69	2.24	2.53	2.39		**2.459**	**0.185**	**7.5%**
3	1.92	1.71	2.03	1.82	2.04	1.66	1.95	1.67		**1.851**	**0.158**	**8.5%**
4												
5												
6	1.37	1.19	1.41	1.06	1.38	1.12	1.24	1.17		**1.242**	**0.129**	**10.4%**
7	2.02	1.63	1.93	1.74	1.93	1.56		1.86	2.08	**1.809**	**0.186**	**10.3%**
8	1.56	1.46	1.72	1.61	1.75	1.44	1.60	1.48		**1.578**	**0.119**	**7.5%**
9	1.96	1.65	1.96	1.87	2.04	1.62	1.92	1.75		**1.837**	**0.155**	**8.4%**
10	1.71	1.69	2.00	1.56	1.70	1.46	1.71	1.49		**1.664**	**0.169**	**10.2%**



２－４－２－４　テオフィリン

要旨

1）テオフィリン標準物質を用いて実試料標準物質候補品を調製し、それを測定して市販キットのデータ収束性について検証を行うことを目的とした。

2）テオフィリン測定キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループを（WG）を設け、キット、キャリブレーター、トレーサビリティ等の調査を実施した。各企業は米国薬局方（USP）テオフォリン（以下 USP テオフィリン）を上位の標準物質としたトレーサビリティ体系となっていることがわかった。

3）今回、キットの互換性の調査および実試料系標準物質候補品の測定値の収束性について検討した。実試料系標準物質候補品は、USP テオフィリンをテオフィリン未投与のヒト血清に添加して作製した。

4）各キット間の測定値の収束性は、相関係数および回帰式より検証した。また、実試料系標準物質候補品の補正効果を相関図における実検体の分布と比較することで検証した。

5）その結果、各キット間の測定値の相関係数は良好であり、実試料系標準物質候補品の理論濃度と、各キット測定値より求めた補正値を用いることで、測定値の収束性効果が確認できた。しかし USP テオフィリンは、純度が不明のため実試料候補品の理論濃度だけで値を決定することの是非を検討する必要がある。

6）実試料候補品を標準物質として使用した場合の測定結果の正確さを確認する為、テオフィリンの基準法である HPLC 法と各キットにおける測定値の正確さの比較検討も必要である。

7）結論は、本実試料系標準物質候補品では提唱されている施設間の許容ばらつき範囲内に収束できなかった。

そこで本候補品の安定性を確認し、サーベイ試料としての可能性を確認する。

１．目的

本調査研究項目群、C4-WG（ジゴキシン、テオフィリン）内のテオフィリンについて、「純物質を添加した標準物質候補品を調製・使用し、各社キットのデータの収束性について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

本委員会は、調査研究項目群の柱１C4-WGで、メンバーの構成を下記に記す。なおWG発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は18年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	西川　隆	共立薬科大学
アドバイザー	桑　克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
柱１担当	大和　隆	協和メデックス株式会社

	氏名	所属
責任者	樋渡亮二	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
運営管理者（臨薬協）	細井健二	第一化学薬品株式会社
技術担当者	高 瑛姫	アボットジャパン株式会社
技術担当者	早川恒一郎	株式会社三菱化学ヤトロン
技術担当者	藤井淳一	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	横田敦子	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	吉海　毅	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

3．委員会の開催

第１回会合：2005/11/09（水）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/14（水）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/06/14（水）15：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/08/11（金）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/11/21（火）15：00～17：00　（臨床検査薬協会会議室）

4．調査研究の概要

4－1 測定値の互換性の現状

2） 現状の調査

①官報で指定されるキャリブレーター

厚生労働省告示第 120 号では、薬事法第 14 条第 1 項の規定により厚生労働大臣が基準を定めて指定する体外診断用医薬品の校正用として、以下の 1 品目が指定されている。

(3)　米国薬局方

②市販されている標準物質

参加企業にアンケート調査を実施した結果、日本におけるテオフィリンの標準物質としては、米国薬局方（USP）が存在した。

各キットの上位標準物質の一覧を以下に示した。

上位標準物質	件数	キット
日本公定書協会標準品	0	
米国薬局方（USP）	7	A,C,D,E,F,G,H
自家調製品	1	B

③精度管理試料でのキット間差の実態調査

イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイの項目に含まれていない。

CAP サーベイは、方法別、装置別集計のみで全体での結果は無い。

2）標準物質候補品のための実験

公的標準品として 米国薬局方(USP)があり入手可能である。

実験計画書（暫定）の分類では公的標準物質が存在し安定的に入手可能な純物質が存在する項目に分類される。

テオフィリンにおけるキット間測定値の互換性に関するデータが無い為、各キットの互換性の調査および WG 作製の純物質を添加した実試料標準物質候補品と実血清検体を使用した収束性のシミュレーションを実施した。

実試料系標準物質候補品を作製するにあたって、溶解性の調査を行い精製水に溶解しテオフィリンが含まれていないプール血清に溶解した。

テオフィリンの理論濃度は、基準範囲およびキットの測定範囲を考慮し
0.0, 5.0, 10.0, 20.0, 30.0 μg/mL に調製した。

＜溶解方法＞

USP Theophylline (Catalog No.1653004)を正確に５０．０mg秤量し、精製水に溶解して、５０mLにメスアップした。（１０００μg/mL)

⇩

プール血清で１０倍に希釈し、１００μg/mLの溶液を調製

⇩

それをプール血清と以下のような比率で混合し、ターゲット濃度に調製

	5	10.0	20.0	30.0	μg/mL
100μg/mL Std.	5	10	20	30	
Pool Serum	95	90	80	70	

調製した標準物質候補品と実血清検体 15 検体を WG 参加施設 8 社（9 キット）に送付し測定を依頼した。またキット試薬以外の方法として HPLC がある。しかし本実血清検体は、少量だったため HPLC 法による測定は、実施できなかった。

なお、検討に用いた実血清検体は、「JCCLS 標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解（2006 年 1 月 10 日)」に従って配布した。

各キットの測定結果の集計方法は、以下のとおりに行った。

＜集計方法＞

４点補正：５、10、20、30 μg/mL

③ 重量法・平均値の傾き、傾き＋切片による補正

３点補正：５，10，20 μg/mL の３点

④ 重量法・平均値の傾きによる補正（表.１）

＜結果＞

各キットの測定プロトコルに従い、各キット指定のキャリブレーターでキャリブレーションし実血清検体を測定した。測定値の相関を集計したところキット間の傾きは 0.787～1.246 だった。

標準物質候補品の測定値は、「全体平均（０濃度を含む）の傾きと切片により補正」が一番良好だった。しかし、０濃度は測定感度以下である点、切片を含まない傾きだけによる補正が望ましい点と重量法による値の決定方法は普遍性が高い点、以上のことから「４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、０濃度を除く）の傾きによる補正」が有効であるとした。この結果、傾きも 0.876～1.132 に収束した（表.２－１、２－２）。

５）考察

テオフィリンにおける測定値の互換性に関するデータを評価したが、現状でもキット間で大きく乖離する検体は無く、相関係数としては良好なものであった。４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、０濃度を除く）の傾きによる補正がより有効な方法であることが確認できた。

４－２標準化および標準物質の設定経過

４－１の結果に基づき、純物質を添加した標準物質による測定値の収束性の効果が確認できた。今後、純物質として用いた USP テオフィリンの純度を検討することが必要と考える。

４－３値付けの測定方法の選択

基準測定操作法の候補としては、現在 HPLC 法が挙げられる。しかし、回収率試験など基準測定法としての妥当性の確認が必要である。

５．標準物質の設定概要

今後の検討が必要である。

６．標準物質の作製プロトコル

今後の検討が必要である。

７．今後の課題

平成 18 年度は、純物質を添加した標準物質の検討において、各キットの共通標準品とした場合、４点補正の重量法（スパイク理論値を基点に、０濃度を除く）の傾きにより測定結果を補正した場合が有効であるという結果だった。今後は、USP の純度に関しての検討が必要である。また、基準測定操作法としての HPLC 法の妥当性も検討が必要である。

８．結び

平成 18 年度の研究において、テオフィリンの標準物質候補品の作製を行い、かつシミュレーションによる検証を行った結果、現状でも収束していることが確認され、さらに標準物質候補品を用いて補正を行うことにより、収束性の改善が可能であることが確認できた。しかし Glick による施設間の許容ばらつき範囲として提案*)されている CV%=6.7%を許容することはできなかった。

提唱されている収束性は達成できなかったが、標準物質候補品を使用することで、現状の収束性の確認ができることが示唆されたため、今後は作成した標準品の安定性試験を継続し、サーベイ試料として使用できないものか検討を継続することとする。

*) BW.Steele et al. Arch Pathol　Lab Med 2001; 125:729-735

表．１　テオフィリン標準物質候補品の補正方法の検討

1,標準物質候補品の測定結果（4点補正）
（1-6,1-7は3点補正）　　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0	重量法（スパイク理論値を基点） 0濃度を除いた傾き	補正係数	全体平均を基点 0濃度を除いた傾き	補正係数
A	0.4	5.5	9.8	20.0	29.4	0.966	1.035	0.988	1.012
B	0.4	5.6	10.5	20.5	30.4	0.993	1.007	1.016	0.984
C	0.4	5.4	9.8	18.9	31.6	1.040	0.962	1.064	0.940
D	0.0	3.1	7.6	17.0	25.3	0.893	1.120	0.913	1.095
E	0.4	5.4	10.1	20.3	30.1	0.993	1.007	1.016	0.984
F	0.4	5.0	9.6	18.7	28.4	0.934	1.071	0.956	1.046
G	0.3	5.1	10.2	20.4	30.2	1.005	0.995	1.028	0.973
H	0.4	5.6	10.8	21.2	30.4	0.995	1.005	1.018	0.982
平均	0.338	5.088	9.800	19.625	29.475				
SD	0.1408	0.8323	0.9725	1.3477	1.9174				
CV%	41.7	16.4	9.9	6.9	6.5				

1-2,重量法をもとに（傾きのみ）校正した標準物質候補品の測定結果　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.41	5.69	10.14	20.70	30.43
B	0.40	5.64	10.57	20.64	30.61
C	0.38	5.19	9.43	18.18	30.40
D	0.00	3.47	8.51	19.04	28.34
E	0.40	5.44	10.17	20.44	30.31
F	0.43	5.36	10.28	20.03	30.42
G	0.30	5.07	10.15	20.30	30.05
H	0.40	5.63	10.85	21.31	30.55
平均	0.34	5.19	10.01	20.08	30.14
SD	0.14	0.73	0.73	1.01	0.75
CV%	42.0	14.0	7.3	5.0	2.5

1-3,平均値をもとに（傾きのみ）校正した標準物質候補品の測定結果　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.40	5.57	9.92	20.24	29.75
B	0.39	5.51	10.33	20.17	29.91
C	0.38	5.08	9.21	17.77	29.70
D	0.00	3.39	8.32	18.62	27.70
E	0.39	5.31	9.94	19.98	29.62
F	0.42	5.23	10.04	19.56	29.71
G	0.29	4.96	9.92	19.85	29.38
H	0.39	5.50	10.61	20.82	29.85
平均	0.33	5.07	9.79	19.63	29.46
SD	0.14	0.71	0.71	0.98	0.73
CV%	42.0	14.0	7.3	5.0	2.5

1-4,重量法をもとに（傾き、切片）校正した標準物質候補品の測定結果　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	-0.09	5.19	9.64	20.20	29.93
B	-0.21	5.03	9.96	20.03	30.00
C	0.83	5.64	9.88	18.63	30.85
D	1.41	4.88	9.92	20.45	29.75
E	0.06	5.10	9.83	20.10	29.97
F	0.16	5.09	10.01	19.76	30.15
G	0.16	4.93	10.01	20.16	29.91
H	-0.43	4.80	10.02	20.48	29.72
平均	0.24	5.08	9.91	19.98	30.03
SD	0.60	0.26	0.13	0.59	0.36
CV%	252.1	5.1	1.3	3.0	1.2

1-5,平均値をもとに（傾き、切片）校正した標準物質候補品の測定結果　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.03	5.20	9.55	19.87	29.38
B	-0.09	5.03	9.85	19.69	29.43
C	0.94	5.64	9.77	18.33	30.26
D	1.49	4.88	9.81	20.11	29.19
E	0.17	5.09	9.72	19.76	29.40
F	0.27	5.08	9.89	19.41	29.56
G	0.26	4.93	9.89	19.82	29.35
H	-0.31	4.80	9.91	20.12	29.15
平均	0.35	5.08	9.80	19.64	29.47
SD	0.59	0.26	0.12	0.58	0.35
CV%	169.6	5.1	1.2	2.9	1.2

1-6,重量法をもとに（傾きのみ）3点校正した標準物質候補品の測定

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.41	5.65	10.06	20.54	30.19
B	0.40	5.63	10.56	20.62	30.58
C	0.44	5.99	10.88	20.98	35.08
D	0.00	3.34	8.18	18.29	27.22
E	0.40	5.42	10.13	20.36	30.19
F	0.44	5.48	10.51	20.48	31.10
G	0.29	5.00	10.00	19.99	29.60
H	0.38	5.39	10.39	20.39	29.24
平均	0.35	5.24	10.09	20.21	30.40
SD	0.15	0.82	0.83	0.82	2.22
CV%	42.5	15.6	8.2	4.1	7.3

1-7,平均値をもとに（傾きのみ）3点校正した標準物質候補品の測定結果　（μg/dL）

	0.0	5.0	10.0	20.0	30.0
A	0.40	5.48	9.76	19.92	29.28
B	0.39	5.47	10.26	20.03	29.70
C	0.43	5.82	10.56	20.37	34.06
D	0.00	3.24	7.95	17.78	26.46
E	0.39	5.26	9.84	19.77	29.32
F	0.43	5.32	10.21	19.90	30.22
G	0.29	4.86	9.71	19.42	28.75
H	0.37	5.23	10.09	19.80	28.39
平均	0.34	5.09	9.80	19.62	29.52
SD	0.14	0.79	0.80	0.79	2.15
CV%	42.5	15.6	8.2	4.0	7.3

表．２－１　実検体の補正効果（相関）

2-1,TDM検体（実測値）

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9957	0.9917	0.9980	0.9957	0.9991	0.9991	0.9976	0.9917	1.0000
傾き	1.000	1.115	1.178	1.024	1.007	0.943	1.053	1.056	0.943	1.178
切片	0.000	-0.430	-1.210	-1.766	0.164	-0.062	-0.138	0.357	-1.766	0.357
B	0.9957	1.0000	0.9898	0.9929	0.9949	0.9960	0.9966	0.9963	0.9898	1.0000
	0.889	1.000	1.050	0.909	0.898	0.840	0.938	0.942	0.840	1.050
	0.498	0.000	-0.660	-1.244	0.619	0.394	0.361	0.842	-1.244	0.842
C	0.9917	0.9898	1.0000	0.9914	0.9857	0.9904	0.9882	0.9875	0.9857	1.0000
	0.835	0.933	1.000	0.856	0.839	0.787	0.877	0.880	0.787	1.000
	1.234	0.913	0.000	-0.524	1.428	1.107	1.194	1.683	-0.524	1.683
D	0.9980	0.9929	0.9914	1.0000	0.9951	0.9969	0.9970	0.9940	0.9914	1.0000
	0.973	1.084	1.148	1.000	0.981	0.918	1.024	1.026	0.918	1.148
	1.771	1.556	0.852	0.000	1.932	1.612	1.727	2.248	0.000	2.248
E	0.9957	0.9949	0.9857	0.9951	1.0000	0.9959	0.9962	0.9955	0.9857	1.0000
	0.985	1.102	1.158	1.009	1.000	0.930	1.038	1.042	0.930	1.158
	-0.046	-0.535	-1.238	-1.832	0.000	-0.118	-0.207	0.277	-1.832	0.277
F	0.9991	0.9960	0.9904	0.9969	0.9959	1.0000	0.9984	0.9989	0.9904	1.0000
	1.058	1.181	1.246	1.083	1.067	1.000	1.114	1.120	1.000	1.246
	0.089	-0.348	-1.100	-1.671	0.240	0.000	-0.048	0.420	-1.671	0.420
G	0.9991	0.9966	0.9882	0.9970	0.9962	0.9984	1.0000	0.9980	0.9882	1.0000
	0.948	1.059	1.114	0.970	0.956	0.895	1.000	1.002	0.895	1.114
	0.156	-0.283	-0.986	-1.605	0.302	0.082	0.000	0.504	-1.605	0.504
H	0.9976	0.9963	0.9875	0.9940	0.9955	0.9989	0.9980	1.0000	0.9875	1.0000
	0.943	1.054	1.108	0.963	0.951	0.891	0.994	1.000	0.891	1.108
	-0.272	-0.781	-1.502	-2.021	-0.140	-0.347	-0.443	0.000	-2.021	0.000
								r(全体)	0.986	1.000
								傾き(全体)	0.787	1.246

2-3、平均値をもとに校正した血清の測定結果（0点を除く4点補正）

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9917	0.9917	0.9980	0.9957	0.9991	0.9991	0.9976	0.9917	1.0000
傾き	1.000	1.145	1.094	1.107	0.979	0.975	1.012	1.025	0.975	1.145
切片	0.000	-1.191	-1.138	-1.934	0.161	-0.064	-0.135	0.351	-1.934	0.351
B	0.9917	1.0000	1.0000	0.9914	0.9857	0.9904	0.9882	0.9875	0.9857	1.0000
	0.859	1.000	0.955	0.953	0.839	0.837	0.867	0.878	0.837	1.000
	1.249	0.000	0.000	-0.574	1.405	1.158	1.162	1.653	-0.574	1.653
C	0.9917	1.0000	1.0000	0.9914	0.9857	0.9904	0.9882	0.9875	0.9857	1.0000
	0.899	1.047	1.000	0.997	0.878	0.876	0.907	0.919	0.876	1.047
	1.249	0.000	0.000	-0.574	1.405	1.158	1.162	1.653	-0.574	1.653
D	0.9980	0.9914	0.9914	1.0000	0.9951	0.9969	0.9970	0.9940	0.9914	1.0000
	0.899	1.032	0.986	1.000	0.882	0.877	0.910	0.920	0.877	1.032
	1.793	0.839	0.801	0.000	1.901	1.686	1.681	2.208	0.000	2.208
E	0.9957	0.9857	0.9857	0.9951	1.0000	0.9959	0.9962	0.9955	0.9857	1.0000
	1.013	1.158	1.106	1.123	1.000	0.988	1.027	1.040	0.988	1.158
	-0.047	-1.218	-1.163	-2.006	0.000	-0.124	-0.202	0.272	-2.006	0.272
F	0.9991	0.9904	0.9904	0.9969	0.9959	1.0000	0.9984	0.9989	0.9904	1.0000
	1.024	1.172	1.120	1.133	1.003	1.000	1.037	1.051	1.000	1.172
	0.090	-1.082	-1.034	-1.830	0.236	0.000	-0.047	0.412	-1.830	0.412
G	0.9991	0.9882	0.9882	0.9970	0.9962	0.9984	1.0000	0.9980	0.9882	1.0000
	0.986	1.127	1.076	1.092	0.967	0.962	1.000	1.012	0.962	1.127
	0.158	-0.970	-0.927	-1.757	0.297	0.086	0.000	0.495	-1.757	0.495
H	0.9976	0.9875	0.9875	0.9940	0.9955	0.9989	0.9980	1.0000	0.9875	1.0000
	0.971	1.111	1.061	1.074	0.953	0.949	0.985	1.000	0.949	1.111
	-0.275	-1.478	-1.412	-2.213	-0.138	-0.363	-0.432	0.000	-2.213	0.000
								r(全体)	0.986	1.000
								傾き(全体)	0.837	1.172

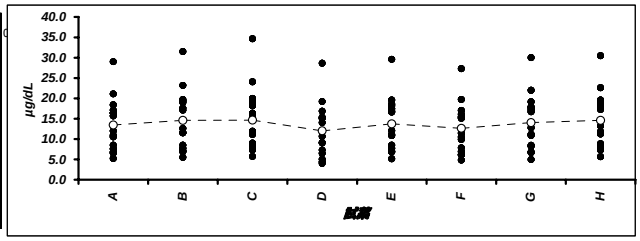
2-2、重量法をもとに校正した血清の測定結果（0点を除く4点補正）

	A	B	C	D	E	F	G	H	Min	Max
A	1.0000	0.9957	0.9917	0.9980	0.9957	0.9991	0.9991	0.9976	0.9917	1.0000
傾き	1.000	1.085	1.095	1.108	0.980	0.976	1.012	1.025	0.976	1.108
切片	0.000	-0.433	-1.164	-1.978	0.165	-0.066	-0.138	0.359	-1.978	0.359
B	0.9957	1.0000	0.9898	0.9929	0.9949	0.9960	0.9966	0.9963	0.9898	1.0000
	0.914	1.000	1.003	1.011	0.898	0.893	0.927	0.940	0.893	1.011
	0.516	0.000	-0.635	-1.393	0.624	0.422	0.359	0.846	-1.393	0.846
C	0.9917	0.9898	1.0000	0.9914	0.9857	0.9904	0.9882	0.9875	0.9857	1.0000
	0.898	0.977	1.000	0.997	0.878	0.876	0.907	0.919	0.876	1.000
	1.277	0.920	0.000	-0.587	1.438	1.185	1.188	1.692	-0.587	1.692
D	0.9980	0.9929	0.9914	1.0000	0.9951	0.9969	0.9970	0.9940	0.9914	1.0000
	0.899	0.975	0.986	1.000	0.882	0.878	0.910	0.920	0.878	1.000
	1.833	1.567	0.820	0.000	1.945	1.727	1.719	2.260	0.000	2.260
E	0.9957	0.9949	0.9857	0.9951	1.0000	0.9959	0.9962	0.9955	0.9857	1.0000
	1.012	1.102	1.106	1.122	1.000	0.989	1.026	1.040	0.989	1.122
	-0.048	-0.539	-1.190	-2.051	0.000	-0.127	-0.206	0.279	-2.051	0.279
F	0.9991	0.9960	0.9904	0.9969	0.9959	1.0000	0.9984	0.9989	0.9904	1.0000
	1.023	1.111	1.119	1.132	1.003	1.000	1.035	1.051	1.000	1.132
	0.092	-0.351	-1.058	-1.872	0.242	0.000	-0.048	0.422	-1.872	0.422
G	0.9991	0.9966	0.9882	0.9970	0.9962	0.9984	1.0000	0.9980	0.9882	1.0000
	0.986	1.072	1.077	1.092	0.968	0.963	1.000	1.012	0.963	1.092
	0.162	-0.285	-0.948	-1.798	0.304	0.088	0.000	0.507	-1.798	0.507
H	0.9976	0.9963	0.9875	0.9940	0.9955	0.9989	0.9980	1.0000	0.9875	1.0000
	0.971	1.056	1.061	1.073	0.953	0.950	0.984	1.000	0.950	1.073
	-0.281	-0.786	-1.445	-2.263	-0.141	-0.372	-0.441	0.000	-2.263	0.000
								r(全体)	0.986	1.000
								傾き(全体)	0.876	1.132

表．２－２　実検体の補正効果（各実検体の CV）

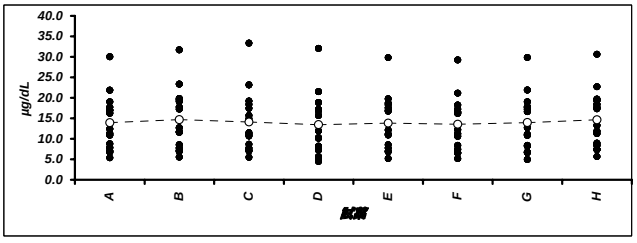
2-1.TDM検体（実測値）　（μg/dL）

検体No	A	B	C	D	E	F	G	H	平均値	SD	CV%
1	16.4	17.1	15.5	15.1	16.9	15.1	17.2	17.3	**14.612**	**0.952**	**6.5%**
2	7.6	7.7	8.1	6.5	7.7	6.9	8.3	8.4	**7.008**	**0.648**	**9.2%**
3	6.8	7.1	7.5	4.4	7.0	6.2	6.8	7.4	**6.233**	**0.992**	**15.9%**
4	8.5	8.5	9.0	7.3	8.5	7.8	8.5	8.9	**7.886**	**0.555**	**7.0%**
5	18.4	19.0	20.0	16.9	18.6	17.0	19.1	19.6	**17.056**	**1.121**	**6.6%**
6	6.5	6.9	7.3	5.0	6.8	6.1	6.7	7.3	**6.511**	**0.736**	**11.3%**
7	5.2	5.5	5.7	4.0	5.2	4.8	5.0	5.7	**5.337**	**0.554**	**10.4%**
8	21.1	23.2	24.1	19.2	19.6	19.7	22.0	22.6	**19.940**	**1.813**	**9.1%**
9	15.7	17.6	16.3	14.0	16.6	15.5	16.7	18.3	**15.527**	**1.311**	**8.4%**
10	29.0	31.5	34.7	28.6	29.6	27.3	30.0	30.5	**27.907**	**2.216**	**7.9%**
11	16.4	19.4	18.1	15.2	17.5	15.3	17.7	17.5	**16.461**	**1.440**	**8.7%**
12	10.5	11.6	11.1	9.0	10.9	9.9	10.9	11.2	**10.796**	**0.825**	**7.6%**
13	17.1	19.7	19.1	15.4	18.2	16.1	17.9	19.2	**17.294**	**1.543**	**8.9%**
14	12.0	12.6	11.9	10.6	12.1	11.4	12.8	13.2	**12.295**	**0.808**	**6.6%**
15	10.9	11.5	11.5	9.2	11.1	10.5	11.2	11.8	**11.403**	**0.830**	**7.3%**



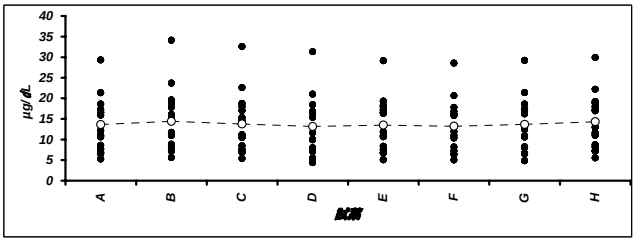
2-2. 重量法をもとに校正した血清の測定結果　（μg/dL）

検体No	A	B	C	D	E	F	G	H	平均値	SD	CV%
1	17.0	17.2	14.9	16.9	17.0	16.2	17.2	17.3	**14.957**	**0.798**	**5.3%**
2	7.9	7.8	7.8	7.2	7.8	7.4	8.2	8.4	**7.157**	**0.373**	**5.2%**
3	7.0	7.1	7.2	4.9	7.0	6.6	6.8	7.4	**6.346**	**0.785**	**12.4%**
4	8.8	8.6	8.7	8.2	8.6	8.4	8.4	8.9	**8.054**	**0.239**	**3.0%**
5	19.0	19.1	19.2	18.9	18.7	18.2	19.0	19.7	**17.432**	**0.418**	**2.4%**
6	6.7	6.9	7.0	5.6	6.8	6.5	6.6	7.3	**6.632**	**0.496**	**7.5%**
7	5.4	5.5	5.5	4.5	5.2	5.2	5.0	5.7	**5.433**	**0.385**	**7.1%**
8	21.8	23.4	23.1	21.5	19.7	21.1	21.9	22.7	**20.366**	**1.181**	**5.8%**
9	16.2	17.7	15.7	15.7	16.7	16.6	16.6	18.4	**15.856**	**0.931**	**5.9%**
10	30.0	31.7	33.3	32.1	29.8	29.2	29.9	30.6	**28.518**	**1.407**	**4.9%**
11	17.0	19.5	17.5	17.0	17.6	16.4	17.7	17.6	**16.800**	**0.926**	**5.5%**
12	10.9	11.7	10.7	10.1	10.9	10.6	10.8	11.3	**11.006**	**0.462**	**4.2%**
13	17.7	19.8	18.4	17.2	18.3	17.2	17.8	19.3	**17.642**	**0.937**	**5.3%**
14	12.4	12.7	11.5	11.9	12.1	12.2	12.7	13.3	**12.543**	**0.551**	**4.4%**
15	11.3	11.6	11.1	10.3	11.2	11.2	11.1	11.9	**11.620**	**0.465**	**4.0%**



2-3. 平均値をもとに校正した血清の測定結果　（μg/dL）

検体No	A	B	C	D	E	F	G	H	平均値	SD	CV%
1	16.60	15.27	14.59	16.48	16.58	15.79	16.77	16.94	**14.447**	**0.831**	**5.8%**
2	7.69	7.94	7.59	7.08	7.58	7.25	8.03	8.20	**7.040**	**0.381**	**5.4%**
3	6.88	7.36	7.03	4.82	6.84	6.45	6.62	7.27	**6.251**	**0.803**	**12.8%**
4	8.60	8.87	8.47	7.99	8.36	8.19	8.22	8.72	**7.937**	**0.293**	**3.7%**
5	18.62	19.63	18.75	18.45	18.25	17.82	18.61	19.24	**17.153**	**0.562**	**3.3%**
6	6.58	7.18	6.86	5.52	6.69	6.38	6.49	7.16	**6.540**	**0.529**	**8.1%**
7	5.26	5.62	5.37	4.38	5.07	5.06	4.85	5.56	**5.351**	**0.405**	**7.6%**
8	21.35	23.68	22.62	21.02	19.29	20.64	21.39	22.18	**20.018**	**1.328**	**6.6%**
9	15.89	16.06	15.34	15.36	16.33	16.21	16.25	17.96	**15.379**	**0.817**	**5.3%**
10	29.35	34.11	32.58	31.34	29.13	28.56	29.19	29.93	**28.242**	**1.966**	**7.0%**
11	16.60	17.85	17.05	16.65	17.17	15.97	17.26	17.22	**16.309**	**0.562**	**3.4%**
12	10.63	10.96	10.47	9.90	10.68	10.36	10.60	11.04	**10.736**	**0.357**	**3.3%**
13	17.31	18.80	17.96	16.82	17.91	16.84	17.44	18.82	**17.210**	**0.784**	**4.6%**
14	12.14	11.74	11.21	11.65	11.86	11.96	12.44	12.97	**12.220**	**0.534**	**4.4%**
15	11.03	11.33	10.82	10.03	10.92	10.98	10.85	11.60	**11.395**	**0.454**	**4.0%**



２－４－２－５　プロラクチン

要旨

１）プロラクチン（PRL）の測定について、実試料系標準物質によるデータ統一化の可能性とその時の問題点に関する調査研究および実試料系標準物質候補品を調製・使用し、キットのデータの標準化について検証を行うことを目的とした調査研究を実施した。

２）キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループ（WG）設け、キット、キャリブレーターおよびトレーサビリティなどの調査を実施した。PRL に関しては、各企業は国際標準品である WHO 標準品を直近上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることがわかった。

３）本年度はキットの互換性の調査および実試料系標準物質候補品を使用した試験で収束性について検討した。方法は各メーカー使用のキャリブレーターおよび実試料系標準物質候補品を用いて実検体の測定値の収束性を評価した。

４）解析方法は各キット間の収束性を相関係数および回帰式より検証した。また、反応性評価は、相関図における実血清検体の分布と実試料系標準物質候補品の分布を比較することにより行った。

５）その結果、現状で相関係数は良好であり大きく乖離する検体はないものの、キット間によって回帰式の傾きに差異が確認された。また、実試料系標準物質候補品を各キットの共通キャリブレーターとした場合でも、キット間による回帰式の傾きは解消されず、人工的に調製した実試料系標準物質では、測定値の統一化は困難であることが確認された。

６）今後の課題は実試料系標準物質として、ヒトプール血清をベースとした実試料系標準物質（抗原未添加系）での測定値の収束性を再検証した後に、ヒトプール血清の性状規格、値付けの手順および認証値と不確かさなどを含めて実試料系標準物質の作製プロトコルの作成作業がある。

１．目的

本調査研究項目群、C5-WG（プロラクチン、E2、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）内の PRL について、「実試料系標準物質候補品を調製・使用し、各社キットのデータの標準化について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

本委員会は、調査研究項目群の柱１C5-WGで、メンバーの構成を下記に記す。

なお WG 発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は 18 年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学

	氏名	所属
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学
アドバイザー	桑克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 （兼）PRL 本試験計画	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協） （兼）副責任者	大和隆	協和メデックス株式会社
実行計画担当者 （PRL,LH,FSH）	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 （E2, プロゲステロン, テストステロン） （兼）E2 本試験計画	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者 （PRL）	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者（E2）	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者（LH）	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者（FSH）	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 （プロゲステロン）	松本幹雄	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者 （テストステロン）	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）

第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　（臨床検査薬協会会議室）
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第９回会合：2007/02/20（火）13：30～16：30　（臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－1　測定値の互換性の現状

１） 現状の調査

①官報で指定される標準物質

日本における PRL に関して、官報の指定はないことが確認できた。

②市販されている標準物質

参加企業にアンケート調査を実施した結果、日本における PRL の実試料系標準物質として、国際標準品である WHO 1st IRP 75/504 (Human Prolactin)、WHO 2nd IS 83/562(Human Prolactin)および WHO 3rd IS 84/500 (Human Prolactin)の 3 種類が存在した。各キットの上位標準物質の一覧を以下に示した。

上位標準物質	件数	キット
WHO 1st IRP 75/504	1 社（1 キット）	D
WHO 2nd IS 83/562	1 社（1 キット）	G
WHO 3rd IS 84/500	8 社（9 キット）	A,B,C,E,F,H,I,J,K

また、キット間の反応性に差があるとの記載があり国際標準品（International　Standard）ではないものの、WHO 1st REFERENCE REAGENT FOR IMMUNOASSAY として、97/714（Recombinant）、98/580 (Recombinant, Glycosylated) および 98/582 (Recombinant, non-Glycosylated) が NIBSC から提供されているが、これらを標準物質としているキットは存在しなかった。

③精度管理試料でのキット間差の実態調査

2005 年度に実施された「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」によると、RI 法が 7 施設と non-RI 法 62 施設の合わせて 69 施設の参加があった。WHO 標準物質として、WHO 1st IRP 75/504 を用いているプロラクチンⅡが 7 施設、WHO 2nd IS 83/562 を用いているプロラクチンⅢが 4 施設、更に WHO 3rd IS 84/500 を用いているプロラクチンⅣが 58 施設で使用されていた。

変動係数 CV(%)は、プロラクチンⅡは 1 種類のキットで、キット内 CV は試料 1 で 21.3%、試料 2 は 8.4%であった。プロラクチンⅢは 2 種類のキットで、キット内,キット間の CV はいずれも 6.4%以内であった。プロラクチンⅣは 11 種類のキットで、試料 1,2 のキット内 CV はいずれも 5.4%以下で、キット間は試料 1 が 18.6%、試料 2 で 15.4%のバラツキが認められた。キット間では試料 1,2 ともに最小、最大の差は約 1.5 倍であった。また、WHO 標準物質の異なる 3 種類での測定値を比較すると、総平均値は試料 A-1 で 4.87,5.24,6.63、試料 A-2 で 28.94,32.41,38.73 とプロラクチンⅡ,Ⅲ,Ⅳの順で高値であった。WHO 標準品によって、単位重量（g）あたりの活性値（IU）が異なることが報告されており、キット差の一因とな

っている可能性もある。また、本サーベイ結果においては、同じ WHO 標準品に準拠しているキット間においても差がみられた。なお、コントロールサーベイに用いられているサンプルは、人工的に調製されたものであるため、実検体を反映していない可能性がある。実際のキット間差を把握するためには実検体を用いた比較検討が重要と考えられる。

上位標準物質	キット	試料A-1 測定値	試料A-2 測定値	各社キット/平均 試料A-1	各社キット/平均 試料A-1
プロラクチンII std.がWHO 1st IRP 75/504準拠している系	a	4.87	28.94	77%	79%
プロラクチンIII std.がWHO 2nd IS 83/562に準拠している系	b	5.15	31.47	81%	86%
	c	5.50	35.20	87%	96%
プロラクチンIV std.がWHO 3rd IS 84/500に準拠している系	d	5.52	33.88	87%	92%
	e	6.54	39.53	103%	108%
	f	8.43	47.11	133%	129%
	g	8.22	45.32	130%	124%
	h	5.57	31.63	88%	86%
	I	5.50	33.83	87%	92%
	j	7.20	43.05	114%	117%
	k	7.43	33.18	118%	91%
	l	7.14	44.70	113%	122%
	m	5.90	33.20	93%	91%
	n	5.54	31.99	88%	87%
	平均	6.32	36.65		

（「第27回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005年）成績報告書」を改変し作表）

	総平均値			キット内CV(%)			キット間CV(%)	
	試料A-1	試料A-2		試料A-1	試料A-2		試料A-1	試料A-2
プロラクチンII	4.87	28.94		21.3	17.6		-	-
プロラクチンIII	5.24	32.41		3.9	6.2		3.4	6.4
プロラクチンIV	6.63	38.73		5.4	3.8		18.6	15.4

（「第27回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005年）成績報告書」を改変し作表）

2）現状把握のための実験（プレテスト 1、資料 1）

PRL におけるキット間測定値の互換性に関するデータが無い為、各社キットの互換性の調査、WG 作製の実試料系標準物質候補品および実血清検体を使用した収束性のシミュレーションを実施した。

実試料系標準物質候補品を作製するにあたり、先ずベース検討のため、5 社 6 キットにおいて、BiosPacific 購入 Native PRL を用いて、プレテストを実施した。

	純物質	ベース
系列 1：	BiosPacific Native PRL	50mM Tris 塩酸緩衝液,1% BSA,pH7.5
系列 2：	BiosPacific Native PRL	ヒト血清（BiosPacific ステロイドフリー）
系列 3：	BiosPacific Native PRL	馬血清（Scantibodies）

上記、3 種類のベースを用いて、PRL の理論濃度を 0,10,100ng/mL に調製した。これらの実試料系標準物質候補品と実血清検体 3 検体を WG 参加施設 5 社(6 キット)に送付し測定を依頼した。

なお、検討に用いた実血清検体は、「JCCLS 標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解（2006 年 1 月 10 日）」に従って配布

した。

各社キットの測定プロトコルに従い、キット付属のキャリブレーターでキャリブレーションした時の測定結果において、キット間の変動係数 CV(%)は、実試料系標準物質候補品で 7～32%、実血清検体で 12～63%であった。また、実試料系標準物質候補品の理論濃度に対して、全てのキットで 10%程度の測定値であった。この原因として、抗原を溶解するときに蛋白を含まない精製水を用いたため、容器への吸着などが起こったと推測する。そのため、測定値の絶対値は無視し、相対的な値で評価した。

各社の測定結果から、実血清検体の測定値を一致させるための補正係数により実試料系標準物質候補品の測定結果を補正した場合を検討した。なお、実血清検体 c に関しては、他の検体と明らかに異なる検体で自己抗体等の干渉物質を含有する可能性があるため、解析から除外した。

その結果、系列 1 の緩衝液ベースにおいて、補正後の実試料系標準物質候補品の収束性が最も良好で 6～7%であった。一方、血清ベースである系列 2,3 では、11～34%と収束性の改善が認められなかった。このことから、系列 1 の緩衝液ベースが最適であると判断した。

3）実試料系標準候補品の凍結融解による影響確認（プレテスト 2、資料 1）

実試料系標準物質候補品は、調製後に凍結保存され、凍結状態にて各社に配送される。そこで、実試料系標準候補品の凍結融解による影響を評価した。

代表的なキットを用いて、凍結前の液状サンプルを比較対照として凍結融解後のサンプルの測定値と比較した。その結果、特に 2.5ng/mL において測定内のバラツキが認められるものの、その他の濃度において一定傾向がないことから、検体の凍結融解による影響は少ないと判断した。

4）現状把握のための実験（本試験）

① WG 作製の実試料系標準物質候補品（3 系列）による現状の確認

方法は各社血清測定のプロトコルに従い、下記 3 系列（添加濃度：0,2.5,10,25,100,250ng/mL）を検体として測定し、測定値比較および収束性を確認した。

	添加抗原	希釈液
系列 A：	WHO 3rd IS 84/500（ヒト下垂体由来）	緩衝液
系列 B：	BiosPacific 購入 Native PRL（ヒト下垂体由来、No.15100128)	緩衝液
系列 C：	Scripps 購入 Recombinant PRL (No.P1516)	緩衝液

緩衝液：50mM Tris 塩酸緩衝液,1% BSA,pH7.5

② 実血清検体による現状の確認

方法は各社血清測定のプロトコルに従い、実血清検体 33 例（プール血清検体 30 例（No.1～30)、単一ドナー血清検体 3 例 (No.31～33、プレテストにおける実血清検体 a～c に相当)）を測定し、測定値比較および収束性を確認した。なお、実血清検体 No.33 に関しては、他の検体と明らかに挙動が異なっており、自己抗体等の干渉物質を含有する可能性があるため、解析から除外した。

③　実試料系標準物質候補品による実血清検体の収束性のシミュレーション

①の WG 作製の実試料系標準物質候補品で得られた結果を用いて、②の実血清検体を補正し、収束性のシミュレーションを実施した。

5）本試験の実験結果

①　WG 作製の実試料系標準物質候補品（3 系列）における現状の確認（資料 2～4）

WG 作製の実試料系標準物質候補品（3 系列）を用いて各社キットにより得られた実測定値と添加濃度（理論値）との比較および相関性を確認した。また、実測定値から算出した平均値と比較することで評価した。

その結果、いずれの評価方法においても顕著な差は認められなかった。

資料 6 において実試料系標準物質候補品の補正係数は、系列 A が 0.61～1.66、系列 B が 0.58～1.79 および系列 C が 0.72～2.67（無反応 1 キット除く）であった。系列 A の WHO 3rd IS 84/500 に準拠している 9 キット間（A,B,C,E,F,H,I,J,K）において、測定値比較で 0.61～1.66 と顕著なキット間差が認められた。

ヒト下垂体由来である系列 A と系列 B の比較において、両者とも各キットにおける測定値の傾向は類似していたものの、若干の差は認められ、全く同等の反応性を有する結果は得られなかった。

一方、Recombinant である系列 C は、系列 A,B に比べてキット間の反応性の差が大きく、全く反応しないキットが存在した。また、実測定値の平均測定値も添加濃度に対して約 1.5 倍と高い結果であった。

②　実血清検体による現状の確認（資料 5,6）

実血清検体 32 例を用いて各社キットにより得られた実測定値を測定値平均値との比較することで評価した。なお、平均 1 は全 11 キットから算出した測定値平均で、平均 2 は 11 キット中最小値と最大値の 2 キット除外した 9 キットから算出した測定値平均とする。

その結果、平均 1,2 の評価において顕著な差はなく、相関係数は、平均 1:0.993～0.999、平均 2：0.992～1.000 と良好であったものの、傾きにおいて、平均 1：0.58～1.38、平均 2：0.57～1.37 および切片において、平均 1：-2.27～2.28、平均 2：-2.19～2.33 と大きな測定値の差が認められた。

WHO 標準物質の異なる 2 キットを除いた 9 キットにおける傾きは、平均 1:0.84～1.38、平均 2：0.83～1.37 と若干の収束性の改善が認められるものの、大きな測定値の差は解消されなかった。

また、WHO 標準物質の異なる 3 種類での測定値を比較すると、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」と同様にプロラクチンⅡ,Ⅲ,Ⅳの順で高値となる傾向にあった。

③　実試料系標準物質候補品による実血清検体の収束性のシミュレーション（資料 7～10）

実試料系標準物質候補品の添加濃度に対する補正係数を用いて、②で得られた実血清検体測定値を補正し、系列 A～C における補正測定値を算出した。その補正測定値の全キット平均値（平均 1）と補正前の各キットの実血清検体測定値との回帰式の傾きから

補正係数による収束性への改善を評価した。

その結果、系列A,Bは類似した傾向を示したものの、系列Cは異なった傾向を示した。

平均1との相関性において、相関係数は、系列A:0.997～0.999、系列B:0.995～1.000、系列C：0.996～1.000と良好であったものの、傾きにおいて、系列A：0.58～1.48、系列B：0.54～1.41、系列C：0.55～1.71および切片において、系列A：-3.02～2.98、系列B：-2.56～2.08、系列C：-2.09～1.69と大きな測定値の差が認められ、傾きの改善は認められなかった。また、補正前後における測定値CVにおいて、系列A,Bは軽微な改善傾向が認められるものの、系列Cでは逆に悪化傾向が認められた。

さらに、実試料系標準物質候補品（系列 A）を用いて、検量線を較正して算出した較正測定値と較正前の各キットの実血清検体測定値との相関性から較正による収束性への改善を評価した。

その結果、較正前後においていずれも相関係数は良好なものの、傾きにおいて、較正前：0.41～2.36（平均 1.06）、CV35%、較正後：0.40～2.47（平均 1.05）、CV40%と較正による傾きおよび収束性の改善傾向は認められなかった。

6）考察

PRLにおける各社キット間の測定値の互換性に関するデータを取得した。その結果、現状で各社キットによる実血清検体測定値の相関性において、キット間における相関係数は良好であった。しかしながら、各社キットによる実血清検体測定値のキット差は大きく、更に、実試料系標準物質候補品に対する反応性はそれ以上にキット差が認められ、実試料系標準物質候補品と実血清検体に対する反応性に顕著な差が認められた。この差の原因としては、準拠している標準物質が同じであっても、マトリックスの影響などにより反応性そのものが実検体と異なることなどが推測される。この反応性の差のため、実試料系標準物質候補品で補正してもキット差は改善されなかった。

以上の結果から、今回作製した実試料系標準物質候補品のような抗原添加系では、キット差の十分な改善が期待できないことが示唆された。しかしながら、キット間における回帰式の傾きは異なるものの、相関係数は非常に高いことから、ヒトプール血清（抗原未添加系）などを用いた実試料系標準物質候補品の作製により、キット間の収束性が改善すると考えられる。

4－2　標準化および標準物質の設定経過

測定値の互換性の現状を把握するための共同実験において、抗原添加系ではキット間の収束性が改善しなかったことから、トレーサビリティ体系における実試料系標準物質候補品としては、ヒトプール血清などの実試料系とすることが必要と考えられる。その上で、WHO標準品などの上位の標準物質へのトレーサビリティを確保するためには以下のような方法が考えられる。

① 最上位の標準物質として、WHO標準品などの国際的な標準物質を位置づける。

② ①の上位の標準物質を添加するための適切なベース（性状規格）を選定する。なお、

プレテストにおいて血清よりも緩衝液をベースとした方が、収束性が良好であったことから、ベースとしては緩衝液系が推奨される。

③　抗原の多様性やマトリックスの影響を受け難いキットを選定する。

④　上位標準物質（①）を適切なベース（②）に添加し作製したものをキャリブレーターとして、マトリックスの影響を受け難い測定キット（③）を用いて、プール血清などの実試料系標準品の濃度を決定する。

⑤　④で作成した実試料系標準品（実用標準物質候補）を用いた共同実験によるキットの収束性を確認する。

以上のようにして定めた実試料系標準品を実試料系標準物質候補品として、キットの標準化を図る。

４－３　値付けの測定方法の選択

今後検討する

５．標準物質の設定概要

今後検討する

６．標準物質の作製プロトコル

今後検討する

７．今後の課題

平成 19 年度は、これまでの結果から標準物質（抗原）をベースに添加したもの（抗原添加系）では、キット差の十分な改善が期待できないため、ヒトプール血清（抗原未添加系）を用いた実試料系標準物質候補品の作製が必要と考えられる。今後は、実試料系標準物質候補品（抗原未添加系）を用いた共同研究によりキット間の収束性が改善するか検証を行うことおよび WHO 等の上位標準物質へのトレーサビリティを確保する方法についての検討が必要と考えられる。

８．結び

平成 18 年度の研究において、プロラクチンの実試料系標準物質候補品の作成を行い、かつシミュレーションによる検証試験を行ったが、測定値の統一化は達成されなかった。今後は残る課題を解決して、ヒトプール血清の性状規格、値付けの手順および認証値と不確かさなどを含めて実試料系標準物質の作製プロトコルの作成作業がある。

今回の検討に使用しました試料の分析や提供および種々のご助言をいただきました慶應義塾大学村田満教授に深謝いたします。

現状把握のための実験（プレテスト1）

測定結果（実測値）

サンプル	PRL(ng/mL)添加濃度	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	Mean	SD	CV
系列１	0	0.11	0.06	0.07	0.10	<L	0.00	-	-	-
	10	0.76	0.85	0.78	0.84	<L	0.90	0.83	0.1	**7%**
	100	7.05	8.41	8.57	9.39	11.25	10.20	9.14	1.5	**16%**
系列２	0	0.11	0.07	0.07	0.11	<L	0.00	-	-	-
	10	0.69	0.72	0.67	1.15	<L	0.80	0.81	0.2	**24%**
	100	6.36	8.08	7.76	7.53	9.26	7.00	7.67	1.0	**13%**
系列３	0	0.01	<L	<L	0.16	<L	0.00	-	-	-
	10	0.39	0.81	0.59	0.55	<L	0.70	0.61	0.2	**26%**
	100	4.72	9.68	11.16	5.37	8.54	6.90	7.73	2.5	**32%**
実血清検体a		12.76	14.29	14.03	14.50	18.28	16.70	15.09	2.0	**13%**
実血清検体b		5.60	6.46	6.21	6.10	7.14	7.80	6.55	0.8	**12%**
実血清検体c		54.21	22.40	22.26	26.10	53.67	95.80	45.74	28.7	**63%**

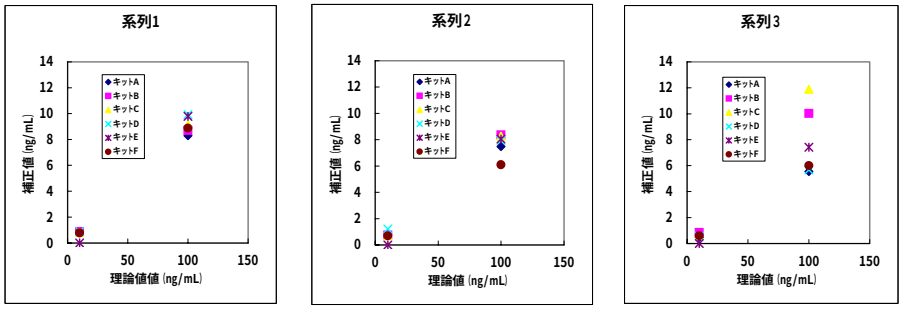
実血清検体における平均値に対する補正係数　　●平均値に合わせる場合

		キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	
実血清検体（平均値との比）	a	0.85	0.95	0.93	0.96	1.21	1.11	
	b	0.85	0.99	0.95	0.93	1.09	1.19	
	c	1.19	0.49	0.49	0.57	1.17	2.09	結果解析から削除
補正係数	a,bの平均	0.85	0.97	0.94	0.95	1.15	1.15	

補正後のデータ（標準サンプル）

	PRL(ng/mL)添加濃度	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	Mean	SD	CV
系列１	10	0.90	0.88	0.83	0.89	-	0.78	0.9	0.0	**6%**
	100	8.30	8.71	9.13	9.92	9.78	8.88	9.1	0.6	**7%**
系列２	10	0.82	0.75	0.72	1.22	-	0.70	0.8	0.2	**26%**
	100	7.48	8.36	8.27	7.96	8.05	6.09	7.7	0.8	**11%**
系列３	10	0.46	0.84	0.63	0.58	-	0.61	0.6	0.1	**22%**
	100	5.55	10.02	11.89	5.68	7.42	6.01	7.8	2.6	**34%**

検体の測定値が平均値と一致するように補正した場合の標準サンプルのキット間差



実試料系標準候補品の凍結融解による影響確認（プレテスト2）

		系列A		系列B		系列C	
		凍結	冷蔵	凍結	冷蔵	凍結	冷蔵
測定値 (ng/mL)	0	0.54	0.58	0.21	0.06	0.40	0.62
		0.40	0.11	0.24	0.00	0.00	0.43
	2.5	1.36	1.76	2.25	1.46	2.87	3.13
		1.76	2.08	2.26	1.70	2.77	2.46
	10	7.62	7.28	6.41	6.12	10.78	10.81
		7.80	7.82	6.55	6.67	10.56	11.04
	25	18.57	17.02	14.62	15.31	26.77	26.25
		17.43	17.38	14.49	15.55	26.60	26.83
	100	70.50	70.79	54.31	56.60	94.40	96.31
		65.76	69.98	53.93	56.92	97.89	100.21
	250	174.24	181.43	136.11	137.27	262.68	262.87
		176.06	179.02	142.55	146.63	248.29	247.36
平均 (ng/mL)	0	0.5	0.3	0.2	0.1	0.0	0.5
	2.5	1.6	1.9	2.3	1.6	2.8	2.8
	10	7.7	7.5	6.5	6.4	10.7	10.9
	25	18.0	17.2	14.6	15.4	26.7	26.5
	100	68.1	70.4	54.1	56.8	96.1	98.3
	250	175.2	180.2	139.3	141.9	255.5	255.1
CV (%)	0	-	-	-	-	-	-
	2.5	**18.3**	**11.8**	0.2	**10.8**	2.5	**16.9**
	10	1.7	5.1	1.5	6.1	1.5	1.4
	25	4.5	1.5	0.6	1.1	0.5	1.5
	100	4.9	0.8	0.5	0.4	2.6	2.8
	250	0.7	0.9	3.3	4.7	4.0	4.3
対凍結 (%)	0		-		-		-
	2.5		**122.9**		**69.8**		99.1
	10		97.9		98.7		102.4
	25		95.6		106.0		99.5
	100		103.3		104.9		102.2
	250		102.9		101.9		99.9

WG作製の実試料系標準物質候補品（3系列）における現状の確認

		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	SD	CV%	平均1（全て）	SD	CV%	平均2（最小､最大削除）
系列A	0[ng/mL]	0	<0.50	<0.50	0.1	0.06	0.08	0.1	<1.0	0.01	1.0	<0.1	0.36	188%	0.19	0.04	55%	0.07
	2.5	4.25	2.42	<0.50	1.9	2.43	2.57	1.9	4.16	2.94	3.2	1.9	0.88	32%	2.76	0.74	28%	2.69
	10	15.75	9.36	6.95	7.1	9.87	10.02	6.1	16.25	11.41	5.2	7.1	3.70	39%	9.55	3.01	32%	9.29
	25	41.10	24.00	23.12	19.0	24.18	24.81	17.6	39.83	28.58	12.9	17.8	8.86	36%	24.81	6.86	28%	24.33
	100	165.45	93.30	96.20	74.2	100.95	104.30	81.0	159.10	125.20	51.4	83.2	34.73	34%	103.11	26.18	26%	101.93
	250	ﾚﾝｼﾞ外	229.00	318.18	182.0	255.95	268.00	189.1	381.23	288.64	152.5	192.5	70.80	29%	245.72	50.49	21%	240.42
系列B	0[ng/mL]	0.00	<0.50	<0.50	0.6	0.06	0.08	0.1	<1.0	0.01	0.9	<0.1	0.35	140%	0.25	0.23	138%	0.17
	2.5	4.75	2.25	<0.50	1.7	2.67	2.78	2.0	3.93	2.58	2.3	2.1	0.94	35%	2.71	0.61	23%	2.59
	10	19.95	8.82	10.49	6.6	10.69	11.04	7.7	15.68	10.30	4.7	7.5	4.29	42%	10.32	2.70	27%	9.87
	25	38.70	22.20	26.94	15.7	26.58	27.73	25.1	39.24	27.60	13.3	20.2	8.11	31%	25.76	6.33	25%	25.65
	100	170.65	86.80	116.20	58.6	109.75	111.20	111.2	164.67	112.25	45.7	86.6	38.02	36%	106.69	28.82	27%	106.36
	250	ﾚﾝｼﾞ外	202.00	375.32	142.4	274.80	285.25	197.5	396.45	256.24	152.8	206.6	86.28	35%	248.94	69.37	28%	243.81
系列C	0[ng/mL]	0.00	<0.50	<0.50	0.4	0.06	0.08	0.1	<1.0	0.02	1.0	0.0	0.34	169%	0.20	0.13	108%	0.12
	2.5	7.25	4.06	<0.50	2.9	3.51	3.67	0.1	6.56	3.78	4.1	4.0	1.94	49%	3.99	1.08	27%	4.07
	10	26.40	15.20	9.99	11.7	16.12	16.79	0.1	25.15	15.67	13.4	14.5	7.06	47%	15.00	4.27	28%	15.39
	25	57.20	37.10	29.55	27.6	35.45	36.83	0.1	63.74	41.46	31.4	38.4	16.37	45%	36.25	8.72	23%	37.21
	100	265.35	143.00	129.33	101.5	167.55	174.05	0.2	255.30	172.92	117.4	154.7	72.16	47%	152.85	44.63	28%	157.31
	250	ﾚﾝｼﾞ外	337.00	396.24	267.7	425.50	433.95	0.2	653.17	367.08	293.3	372.1	163.26	46%	354.62	59.45	16%	361.61
検体																		
プール血清	1	3.40	2.38	1.39	2.1	2.56	2.78	2.6	2.83	2.73	3.4	3.0	0.57	21%	2.65	0.28	11%	2.62
	2	3.15	1.96	<0.50	1.1	2.21	2.33	2.1	2.73	2.11	3.0	2.4	0.57	25%	2.31	0.35	15%	2.35
	3	3.55	2.66	1.32	1.4	2.79	3.07	2.8	3.27	2.71	3.5	3.4	0.76	27%	2.77	0.61	21%	2.85
	4	7.40	7.04	9.69	5.1	7.33	8.11	7.0	9.32	7.20	8.6	8.4	1.28	16%	7.74	0.81	10%	7.82
	5	6.85	6.65	8.69	4.6	7.31	7.80	6.9	8.38	7.23	8.1	7.8	1.10	15%	7.30	0.59	8%	7.44
	6	6.30	5.63	7.96	3.6	6.28	6.67	6.1	7.74	5.81	7.2	6.5	1.17	18%	6.35	0.66	10%	6.48
	7	7.20	7.10	11.13	4.3	7.46	8.00	7.2	13.29	7.03	8.5	8.4	2.35	29%	8.14	1.30	16%	8.00
	8	7.10	6.57	8.59	4.1	6.89	7.36	6.7	8.80	6.53	8.5	8.0	1.32	18%	7.20	0.80	11%	7.36
	9	11.15	10.60	14.31	6.9	11.37	12.22	10.9	14.24	11.26	12.5	12.1	1.99	17%	11.60	1.11	9%	11.82
	10	11.55	10.60	15.47	7.0	11.28	11.97	10.8	14.53	10.69	13.2	12.8	2.25	19%	11.81	1.33	11%	11.94
	11	11.70	12.20	16.32	6.8	12.17	13.35	12.2	14.35	11.10	13.7	12.8	2.36	19%	12.41	1.02	8%	12.61
	12	11.35	11.50	20.74	6.8	11.44	12.71	11.4	13.89	11.02	12.8	11.5	3.32	27%	12.28	0.96	8%	11.95
	13	17.15	15.20	21.38	9.9	15.60	16.77	15.3	20.95	14.54	17.3	17.8	3.12	19%	16.54	1.93	12%	16.74
	14	17.35	16.20	20.19	10.6	16.36	17.71	15.9	20.73	15.51	16.5	17.8	2.65	16%	16.81	1.42	8%	17.06
	15	17.25	15.50	21.16	10.0	16.48	17.76	16.2	20.78	15.16	17.0	17.4	2.95	18%	16.79	1.65	10%	17.06
	16	22.55	20.50	26.62	14.4	21.27	23.14	21.3	27.28	19.37	22.1	21.4	3.45	16%	21.81	2.05	9%	22.02
	17	23.35	20.50	27.84	16.3	21.45	23.23	22.5	30.08	20.03	23.6	25.1	3.75	16%	23.09	2.40	10%	23.06
	18	22.65	21.30	27.07	14.7	22.16	23.04	23.5	26.90	20.04	22.9	24.2	3.35	15%	22.59	1.91	8%	22.97
	19	21.60	20.50	26.68	14.5	20.73	22.80	21.4	26.19	19.95	21.3	24.9	3.37	15%	21.86	2.11	10%	22.14
	20	28.75	27.70	31.51	21.4	25.28	26.85	31.8	37.39	23.86	26.0	38.2	5.31	18%	28.98	4.18	15%	28.80
	21	32.45	31.40	44.31	21.4	31.97	33.70	31.9	40.62	29.86	31.4	41.5	6.37	19%	33.68	4.21	12%	33.87
	22	40.45	37.70	47.08	25.4	37.53	39.82	41.0	50.25	35.39	36.9	50.4	7.21	18%	40.17	4.93	12%	40.67
	23	41.50	38.60	51.90	25.8	40.70	44.51	40.2	49.21	38.50	36.5	49.0	7.25	17%	41.49	4.57	11%	42.08
	24	60.35	62.00	77.86	41.4	61.07	63.04	64.1	78.75	55.53	57.4	85.0	12.25	19%	64.23	8.29	13%	64.45
	25	64.20	62.00	77.78	42.3	60.65	64.14	65.2	81.65	56.46	53.0	80.9	12.04	19%	64.39	9.11	14%	64.92
	26	56.30	60.40	69.24	43.7	51.81	56.87	68.2	78.69	49.35	47.9	86.6	13.47	22%	60.83	10.31	17%	59.86
	27	106.30	111.00	160.96	68.4	111.60	122.70	106.2	142.40	96.07	92.1	128.0	25.09	22%	113.24	15.84	14%	112.92
	28	180.80	160.00	267.74	99.8	176.70	196.80	170.6	259.20	160.72	155.1	205.8	47.53	26%	184.83	32.56	18%	185.07
	29	231.55	203.00	309.56	136.1	226.50	246.30	216.6	311.85	209.90	201.5	268.5	50.65	22%	232.84	35.38	15%	234.82
	30	6.70	6.56	9.42	4.8	6.89	7.22	6.8	8.64	6.47	8.0	7.5	1.22	17%	7.18	0.73	10%	7.19
単一ドナー血清	31	12.15	13.10	20.23	9.7	13.39	14.28	12.9	18.76	12.85	16.2	16.7	3.09	21%	14.57	2.24	15%	14.48
	32	5.55	5.76	10.12	4.2	6.04	6.42	5.9	8.21	5.65	7.9	7.2	1.62	24%	6.63	1.01	15%	6.51
	33除外	37.25	43.60	70.50	40.1	19.01	21.05	53.7	54.05	20.96	39.8	85.0	20.83	47%	44.10	15.85	37%	42.34

WG作製の実試料系標準物質候補品（3系列）における現状の確認

添加濃度との比較（測定値）

		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
系列A	2.5[ng/mL]	1.70	0.97	-	0.75	0.97	1.03	0.77	1.66	1.18	1.28	0.75
	10	1.58	0.94	0.70	0.71	0.99	1.00	0.61	1.63	1.14	0.52	0.71
	25	1.64	0.96	0.92	0.76	0.97	0.99	0.70	1.59	1.14	0.52	0.71
	100	1.65	0.93	0.96	0.74	1.01	1.04	0.81	1.59	1.25	0.51	0.83
	250	-	0.92	1.27	0.73	1.02	1.07	0.76	1.52	1.15	0.61	0.77
	SD	0.05	0.02	0.24	0.02	0.02	0.03	0.08	0.05	0.05	0.33	0.05
	CV%	3%	2%	25%	3%	2%	3%	11%	3%	4%	48%	7%
	平均	1.64	0.94	0.96	0.74	0.99	1.03	0.73	1.60	1.17	0.69	0.75
系列B	2.5[ng/mL]	1.90	0.90	-	0.67	1.07	1.11	0.81	1.57	1.03	0.94	0.84
	10	2.00	0.88	1.05	0.66	1.07	1.10	0.77	1.57	1.03	0.47	0.75
	25	1.55	0.89	1.08	0.63	1.06	1.11	1.00	1.57	1.10	0.53	0.81
	100	1.71	0.87	1.16	0.59	1.10	1.11	1.11	1.65	1.12	0.46	0.87
	250	-	0.81	1.50	0.57	1.10	1.14	0.79	1.59	1.02	0.61	0.83
	SD	0.20	0.04	0.21	0.04	0.02	0.01	0.15	0.03	0.05	0.20	0.04
	CV%	11%	4%	17%	7%	2%	1%	17%	2%	4%	33%	5%
	平均	1.79	0.87	1.20	0.62	1.08	1.12	0.90	1.59	1.06	0.60	0.82
系列C	2.5[ng/mL]	2.90	1.62	-	1.15	1.40	1.47	0.04	2.62	1.51	1.65	1.60
	10	2.64	1.52	1.00	1.17	1.61	1.68	0.01	2.52	1.57	1.34	1.45
	25	2.29	1.48	1.18	1.10	1.42	1.47	0.00	2.55	1.66	1.26	1.54
	100	2.65	1.43	1.29	1.02	1.68	1.74	0.00	2.55	1.73	1.17	1.55
	250	-	1.35	1.58	1.07	1.70	1.74	0.00	2.61	1.47	1.17	1.49
	SD	0.25	0.10	0.25	0.06	0.14	0.14	0.02	0.05	0.11	0.20	0.06
	CV%	10%	7%	19%	6%	9%	9%	142%	2%	7%	15%	4%
	平均	2.62	1.48	1.26	1.10	1.56	1.62	0.01	2.57	1.59	1.32	1.53

添加濃度との比較（相関図）

		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
系列A	傾き	1.66	0.92	1.30	0.73	1.03	1.07	0.76	1.52	1.16	0.61	0.78
	γ切片	-0.34	0.70	-14.05	0.41	-0.81	-1.31	0.01	2.00	1.45	-1.94	0.33
	R 2	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
系列B	傾き	1.70	0.81	1.53	0.57	1.10	1.14	0.80	1.59	1.03	0.61	0.83
	γ切片	0.13	1.86	-14.97	1.06	-0.42	-0.84	6.68	0.79	2.16	-3.21	0.28
	R 2	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	1.00	0.97	1.00	1.00	0.99	1.00
系列C	傾き	2.67	1.34	1.62	1.07	1.71	1.75	0.00	2.61	1.47	1.17	1.49
	γ切片	-2.56	3.09	-14.24	-0.29	-3.05	-2.26	0.11	-1.72	5.92	1.54	1.49
	R 2	0.9985	0.9995	0.9953	1.0	1.00	0.9998	0.7	1.00	0.9947	1.0	1.0

平均1との比較

		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
系列A	2.5[ng/mL]	1.54	0.88	-	0.68	0.88	0.93	0.70	1.50	1.06	1.16	0.68
	10	1.65	0.98	0.73	0.74	1.03	1.05	0.64	1.70	1.19	0.55	0.74
	25	1.66	0.97	0.93	0.77	0.97	1.00	0.71	1.61	1.15	0.52	0.72
	100	1.60	0.90	0.93	0.72	0.98	1.01	0.79	1.54	1.21	0.50	0.81
	250	-	0.93	1.29	0.74	1.04	1.09	0.77	1.55	1.17	0.62	0.78
	SD	0.05	0.04	0.24	0.03	0.07	0.06	0.06	0.08	0.06	0.28	0.05
	CV%	3%	5%	24%	5%	7%	6%	8%	5%	5%	42%	7%
	平均	1.61	0.93	0.97	0.73	0.98	1.02	0.72	1.58	1.16	0.67	0.75
系列B	2.5[ng/mL]	1.75	0.83	-	0.62	0.98	1.02	0.75	1.45	0.95	0.87	0.77
	10	1.93	0.85	1.02	0.64	1.04	1.07	0.75	1.52	1.00	0.46	0.73
	25	1.50	0.86	1.05	0.61	1.03	1.08	0.97	1.52	1.07	0.52	0.79
	100	1.60	0.81	1.09	0.55	1.03	1.04	1.04	1.54	1.05	0.43	0.81
	250	-	0.81	1.51	0.57	1.10	1.15	0.79	1.59	1.03	0.61	0.83
	SD	0.19	0.02	0.23	0.04	0.04	0.05	0.14	0.05	0.05	0.18	0.04
	CV%	11%	3%	20%	6%	4%	4%	16%	3%	5%	31%	5%
	平均	1.70	0.83	1.16	0.60	1.04	1.07	0.86	1.53	1.02	0.58	0.79

系列CはD社の結果を含む平均のため、計算せず

平均2との比較

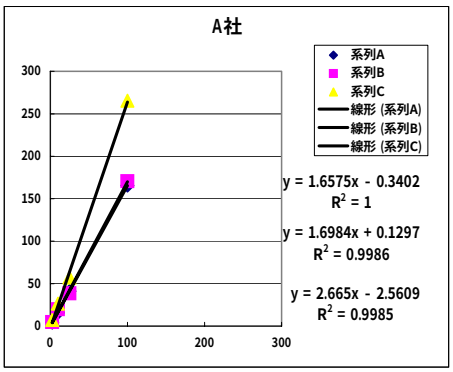
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
系列A	2.5[ng/mL]	1.58	0.90	-	0.69	0.90	0.95	0.72	1.55	1.09	1.19	0.70
	10	1.70	1.01	0.75	0.76	1.06	1.08	0.66	1.75	1.23	0.56	0.76
	25	1.69	0.99	0.95	0.78	0.99	1.02	0.72	1.64	1.17	0.53	0.73
	100	1.62	0.92	0.94	0.73	0.99	1.02	0.79	1.56	1.23	0.50	0.82
	250	-	0.95	1.32	0.76	1.06	1.11	0.79	1.59	1.20	0.63	0.80
	SD	0.06	0.05	0.24	0.03	0.07	0.06	0.06	0.08	0.06	0.29	0.05
	CV%	3%	5%	24%	5%	7%	6%	8%	5%	5%	42%	6%
	平均	1.65	0.95	0.99	0.74	1.00	1.04	0.74	1.62	1.18	0.68	0.76
系列B	2.5[ng/mL]	1.84	0.87	-	0.65	1.03	1.07	0.79	1.52	1.00	0.91	0.81
	10	2.02	0.89	1.06	0.66	1.08	1.12	0.78	1.59	1.04	0.48	0.76
	25	1.51	0.87	1.05	0.61	1.04	1.08	0.98	1.53	1.08	0.52	0.79
	100	1.60	0.82	1.09	0.55	1.03	1.05	1.05	1.55	1.06	0.43	0.81
	250	-	0.83	1.54	0.58	1.13	1.17	0.81	1.63	1.05	0.63	0.85
	SD	0.23	0.03	0.24	0.05	0.04	0.05	0.12	0.04	0.03	0.19	0.03
	CV%	13%	4%	20%	8%	4%	4%	14%	3%	3%	32%	4%
	平均	1.74	0.85	1.19	0.61	1.06	1.10	0.88	1.56	1.04	0.59	0.81
系列C	2.5[ng/mL]	1.78	1.00	-	0.71	0.86	0.90	0.02	1.61	0.93	1.01	0.99
	10	1.72	0.99	0.65	0.76	1.05	1.09	0.01	1.63	1.02	0.87	0.94
	25	1.54	1.00	0.79	0.74	0.95	0.99	0.00	1.71	1.11	0.84	1.03
	100	1.69	0.91	0.82	0.65	1.07	1.11	0.00	1.62	1.10	0.75	0.98
	250	-	0.93	1.10	0.74	1.18	1.20	0.00	1.81	1.02	0.81	1.03
	SD	0.10	0.04	0.19	0.04	0.12	0.12	0.01	0.08	0.07	0.10	0.04
	CV%	6%	4%	22%	6%	12%	11%	138%	5%	7%	11%	4%
	平均	1.68	0.96	0.84	0.72	1.02	1.06	0.01	1.68	1.04	0.86	0.99

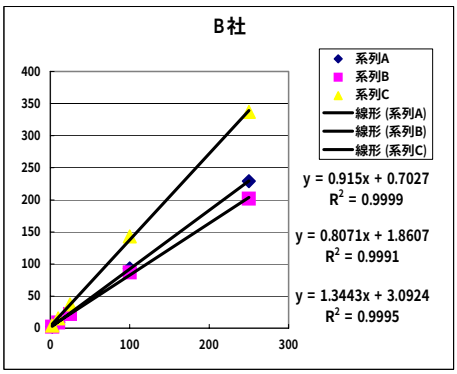
実試料系標準物質候補品の補正係数（まとめ）

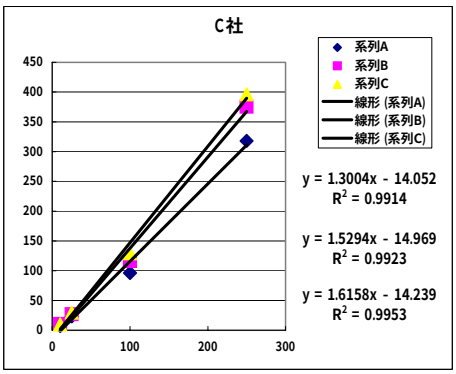
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	SD	CV%	平均
系列A	添加濃度	測定値	1.64	0.94	0.96	0.74	0.99	1.03	0.73	1.60	1.17	0.69	0.75	0.33	32%	1.02
	添加濃度	相関図	1.66	0.92	1.30	0.73	1.03	1.07	0.76	1.52	1.16	0.61	0.78	0.34	32%	1.05
	実測定値	平均1	1.61	0.93	0.97	0.73	0.98	1.02	0.72	1.58	1.16	0.67	0.75	0.33	32%	1.01
	実測定値	平均2	1.65	0.95	0.99	0.74	1.00	1.04	0.74	1.62	1.18	0.68	0.76	0.33	32%	1.03
系列B	添加濃度	測定値	1.79	0.87	1.20	0.62	1.08	1.12	0.90	1.59	1.06	0.60	0.82	0.37	35%	1.06
	添加濃度	相関図	1.70	0.81	1.53	0.57	1.10	1.14	0.80	1.59	1.03	0.61	0.83	0.39	37%	1.06
	実測定値	平均1	1.70	0.83	1.16	0.60	1.04	1.07	0.86	1.53	1.02	0.58	0.79	0.35	34%	1.02
	実測定値	平均2	1.74	0.85	1.19	0.61	1.06	1.10	0.88	1.56	1.04	0.59	0.81	0.36	35%	1.04
系列C	添加濃度	測定値	2.62	1.48	1.26	1.10	1.56	1.62	0.01	2.57	1.59	1.32	1.53	0.70	46%	1.51
	添加濃度	相関図	2.67	1.34	1.62	1.07	1.71	1.75	0.00	2.61	1.47	1.17	1.49	0.73	47%	1.54
	実測定値	平均2	1.68	0.96	0.84	0.72	1.02	1.06	0.01	1.68	1.04	0.86	0.99	0.45	46%	0.99

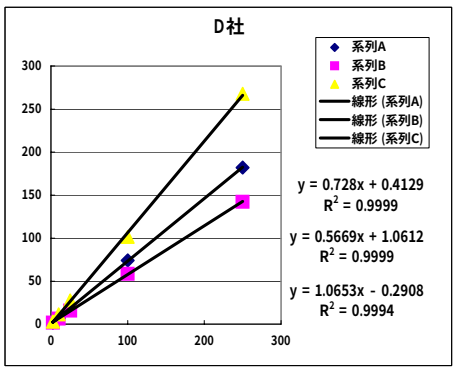
WG作製の実試料系標準物質候補品（3系列）における現状の確認

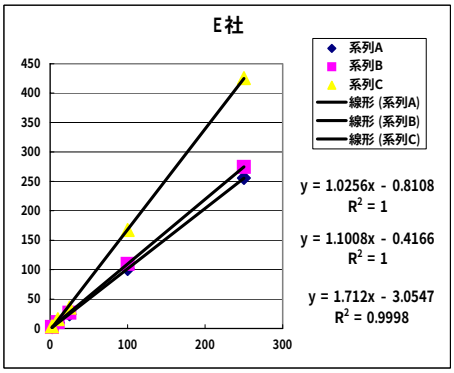
各社キット測定値と添加濃度との相関図

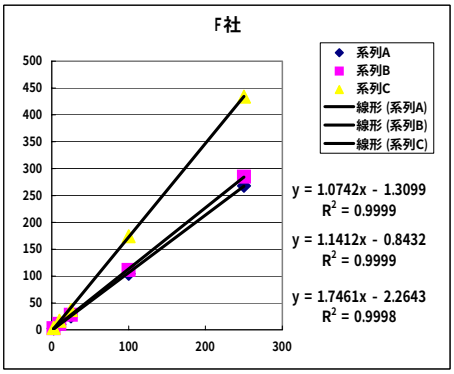


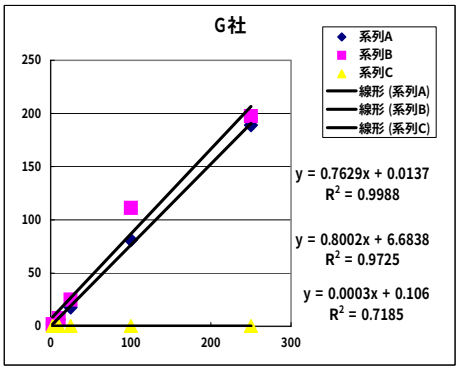


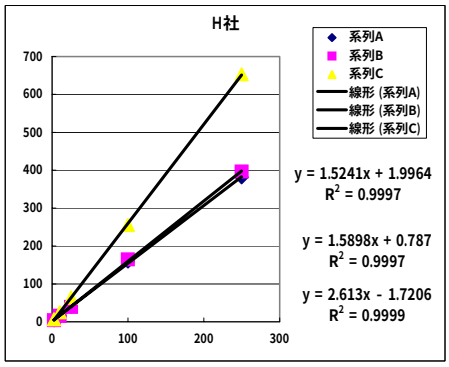


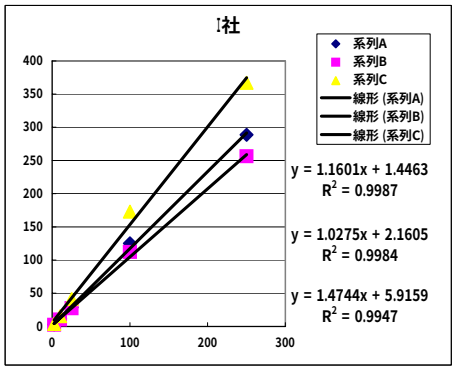


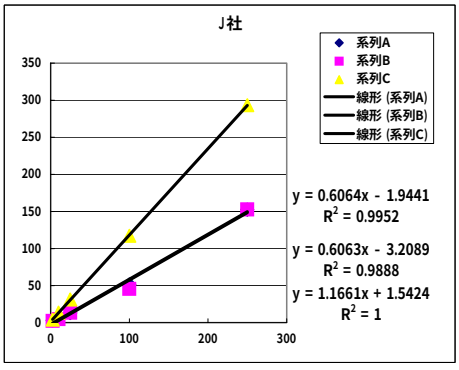


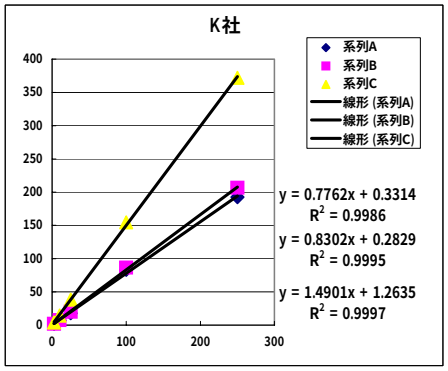












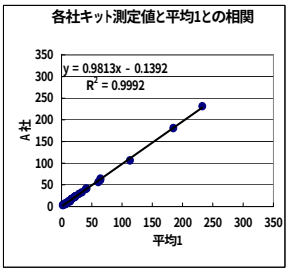
資料 5

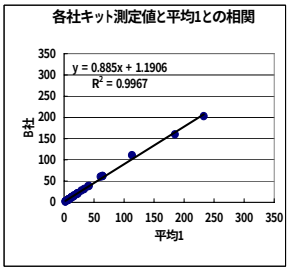
② 実血清検体による現状の確認

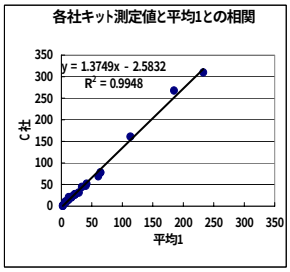
各社キット測定値と平均2との相関性

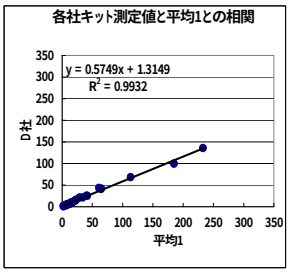
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	平均1（全て）
プール血清	1	3.4	2.38	1.39	2.1	2.56	2.78	2.6	2.83	2.73	3.4	3.0	2.65
	2	3.15	1.96	<0.50	1.1	2.21	2.33	2.1	2.73	2.11	3.0	2.4	2.31
	3	3.55	2.66	1.32	1.4	2.79	3.07	2.8	3.27	2.71	3.5	3.4	2.77
	4	7.4	7.04	9.69	5.1	7.33	8.11	7.0	9.32	7.2	8.6	8.4	7.74
	5	6.85	6.65	8.69	4.6	7.31	7.8	6.9	8.38	7.23	8.1	7.8	7.30
	6	6.3	5.63	7.96	3.6	6.28	6.67	6.1	7.74	5.81	7.2	6.5	6.35
	7	7.2	7.1	11.13	4.3	7.46	8	7.2	13.29	7.03	8.5	8.4	8.14
	8	7.1	6.57	8.59	4.1	6.89	7.36	6.7	8.80	6.53	8.5	8.0	7.20
	9	11.15	10.6	14.31	6.9	11.37	12.22	10.9	14.24	11.26	12.5	12.1	11.60
	10	11.55	10.6	15.47	7.0	11.28	11.97	10.8	14.53	10.69	13.2	12.8	11.81
	11	11.7	12.2	16.32	6.8	12.17	13.35	12.2	14.35	11.1	13.7	12.8	12.41
	12	11.35	11.5	20.74	6.8	11.44	12.71	11.4	13.89	11.02	12.8	11.5	12.28
	13	17.15	15.2	21.38	9.9	15.60	16.77	15.3	20.95	14.54	17.3	17.8	16.54
	14	17.35	16.2	20.19	10.6	16.36	17.71	15.9	20.73	15.51	16.5	17.8	16.81
	15	17.25	15.5	21.16	10.0	16.48	17.76	16.2	20.78	15.16	17.0	17.4	16.79
	16	22.55	20.5	26.62	14.4	21.27	23.14	21.3	27.28	19.37	22.1	21.4	21.81
	17	23.35	20.5	27.84	16.3	21.45	23.23	22.5	30.08	20.03	23.6	25.1	23.09
	18	22.65	21.3	27.07	14.7	22.16	23.04	23.5	26.90	20.04	22.9	24.2	22.59
	19	21.6	20.5	26.68	14.5	20.73	22.8	21.4	26.19	19.95	21.3	24.9	21.86
	20	28.75	27.7	31.51	21.4	25.28	26.85	31.8	37.39	23.86	26.0	38.2	28.98
	21	32.45	31.4	44.31	21.4	31.97	33.7	31.9	40.62	29.86	31.4	41.5	33.68
	22	40.45	37.7	47.08	25.4	37.53	39.82	41.0	50.25	35.39	36.9	50.4	40.17
	23	41.5	38.6	51.9	25.8	40.70	44.51	40.2	49.21	38.5	36.5	49.0	41.49
	24	60.35	62	77.86	41.4	61.07	63.04	64.1	78.75	55.53	57.4	85.0	64.23
	25	64.2	62	77.78	42.3	60.65	64.14	65.2	81.65	56.46	53.0	80.9	64.39
	26	56.3	60.4	69.24	43.7	51.81	56.87	68.2	78.69	49.35	47.9	86.6	60.83
	27	106.3	111	160.96	68.4	111.60	122.7	106.2	142.40	96.07	92.1	128.0	113.24
	28	180.8	160	267.74	99.8	176.70	196.8	170.6	259.20	160.72	155.1	205.8	184.83
	29	231.55	203	309.56	136.1	226.50	246.3	216.6	311.85	209.9	201.5	268.5	232.84
	30	6.7	6.56	9.42	4.8	6.89	7.22	6.8	8.64	6.47	8.0	7.5	7.18
単一ドナー血清	31	12.15	13.1	20.23	9.7	13.39	14.28	12.9	18.76	12.85	16.2	16.7	14.57
	32	5.55	5.76	10.12	4.2	6.04	6.42	5.9	8.21	5.65	7.9	7.2	6.63
	33除外	37.25	43.6	70.5	40.1	19.01	21.05	53.7	54.05	20.96	39.8	85.0	44.10
傾き		0.98	0.89	1.38	0.58	0.96	1.06	0.94	1.35	0.88	0.84	1.16	
y切片		-0.30	1.28	-2.25	1.67	-1.08	-1.54	1.33	-2.27	-0.53	2.28	1.28	
r		0.999	0.998	0.997	0.993	0.996	0.996	0.998	0.999	0.997	0.999	0.993	

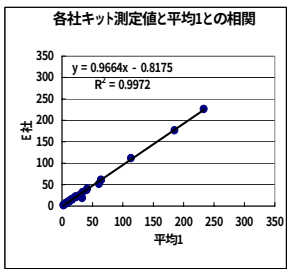
各社キット測定値と平均1との相関

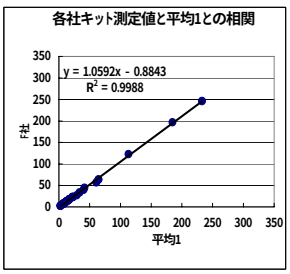


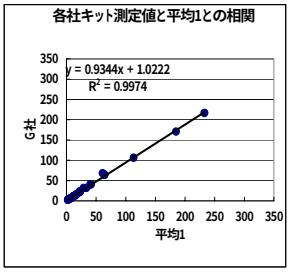


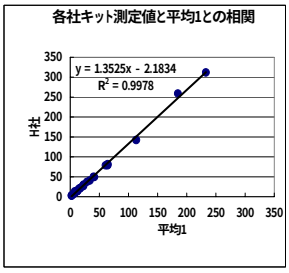


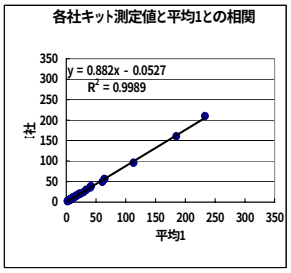


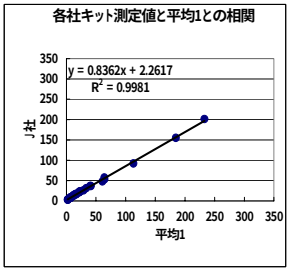


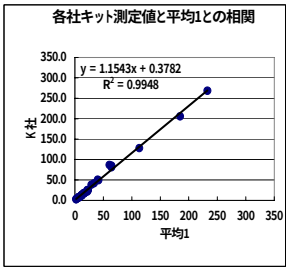










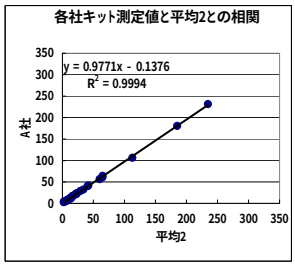


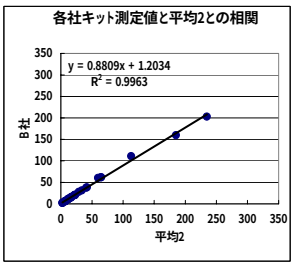
② 実血清検体による現状の確認

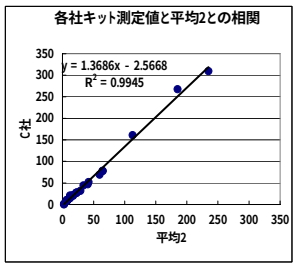
各社キット測定値と平均2との相関性

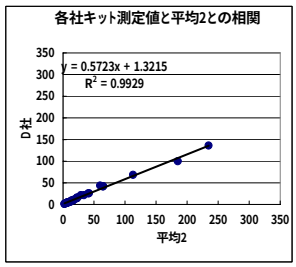
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	(最小, 最大なし)
プール血清	1	3.4	2.38	1.39	2.1	2.56	2.78	2.6	2.83	2.73	3.4	3.0	2.62
	2	3.15	1.96	<0.50	1.1	2.21	2.33	2.1	2.73	2.11	3.0	2.4	2.35
	3	3.55	2.66	1.32	1.4	2.79	3.07	2.8	3.27	2.71	3.5	3.4	2.85
	4	7.4	7.04	9.69	5.1	7.33	8.11	7.0	9.32	7.2	8.6	8.4	7.82
	5	6.85	6.65	8.69	4.6	7.31	7.8	6.9	8.38	7.23	8.1	7.8	7.44
	6	6.3	5.63	7.96	3.6	6.28	6.67	6.1	7.74	5.81	7.2	6.5	6.48
	7	7.2	7.1	11.13	4.3	7.46	8	7.2	13.29	7.03	8.5	8.4	8.00
	8	7.1	6.57	8.59	4.1	6.89	7.36	6.7	8.80	6.53	8.5	8.0	7.36
	9	11.15	10.6	14.31	6.9	11.37	12.22	10.9	14.24	11.26	12.5	12.1	11.82
	10	11.55	10.6	15.47	7.0	11.28	11.97	10.8	14.53	10.69	13.2	12.8	11.94
	11	11.7	12.2	16.32	6.8	12.17	13.35	12.2	14.35	11.1	13.7	12.8	12.61
	12	11.35	11.5	20.74	6.8	11.44	12.71	11.4	13.89	11.02	12.8	11.5	11.95
	13	17.15	15.2	21.38	9.9	15.60	16.77	15.3	20.95	14.54	17.3	17.8	16.74
	14	17.35	16.2	20.19	10.6	16.36	17.71	15.9	20.73	15.51	16.5	17.8	17.06
	15	17.25	15.5	21.16	10.0	16.48	17.76	16.2	20.78	15.16	17.0	17.4	17.06
	16	22.55	20.5	26.62	14.4	21.27	23.14	21.3	27.28	19.37	22.1	21.4	22.02
	17	23.35	20.5	27.84	16.3	21.45	23.23	22.5	30.08	20.03	23.6	25.1	23.06
	18	22.65	21.3	27.07	14.7	22.16	23.04	23.5	26.90	20.04	22.9	24.2	22.97
	19	21.6	20.5	26.68	14.5	20.73	22.8	21.4	26.19	19.95	21.3	24.9	22.14
	20	28.75	27.7	31.51	21.4	25.28	26.85	31.8	37.39	23.86	26.0	38.2	28.80
	21	32.45	31.4	44.31	21.4	31.97	33.7	31.9	40.62	29.86	31.4	41.5	33.87
	22	40.45	37.7	47.08	25.4	37.53	39.82	41.0	50.25	35.39	36.9	50.4	40.67
	23	41.5	38.6	51.9	25.8	40.70	44.51	40.2	49.21	38.5	36.5	49.0	42.08
	24	60.35	62	77.86	41.4	61.07	63.04	64.1	78.75	55.53	57.4	85.0	64.45
	25	64.2	62	77.78	42.3	60.65	64.14	65.2	81.65	56.46	53.0	80.9	64.92
	26	56.3	60.4	69.24	43.7	51.81	56.87	68.2	78.69	49.35	47.9	86.6	59.86
	27	106.3	111	160.96	68.4	111.60	122.7	106.2	142.40	96.07	92.1	128.0	112.92
	28	180.8	160	267.74	99.8	176.70	196.8	170.6	259.20	160.72	155.1	205.8	185.07
	29	231.55	203	309.56	136.1	226.50	246.3	216.6	311.85	209.9	201.5	268.5	234.82
	30	6.7	6.56	9.42	4.8	6.89	7.22	6.8	8.64	6.47	8.0	7.5	7.19
単一ドナー血清	31	12.15	13.1	20.23	9.7	13.39	14.28	12.9	18.76	12.85	16.2	16.7	14.48
	32	5.55	5.76	10.12	4.2	6.04	6.42	5.9	8.21	5.65	7.9	7.2	6.51
	33除外	37.25	43.6	70.5	40.1	19.01	21.05	53.7	54.05	20.96	39.8	85.0	42.34
傾き		0.98	0.88	1.37	0.57	0.96	1.05	0.93	1.35	0.88	0.83	1.15	
y切片		-0.25	1.34	-2.15	1.72	-1.05	-1.50	1.40	-2.19	-0.50	2.33	1.38	
r		0.9996	0.998	0.997	0.993	0.997	0.997	0.997	0.999	0.998	0.999	0.992	

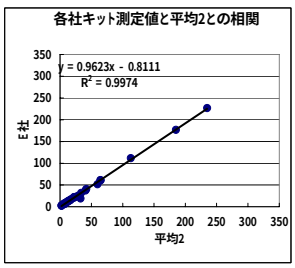
各社キット測定値と平均2との相関

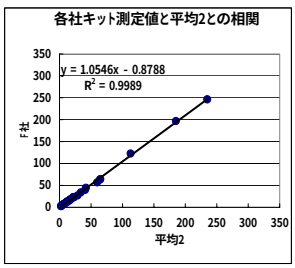


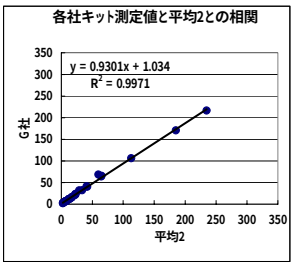


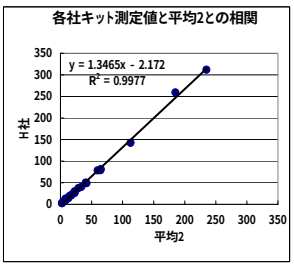


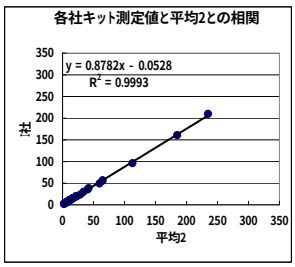


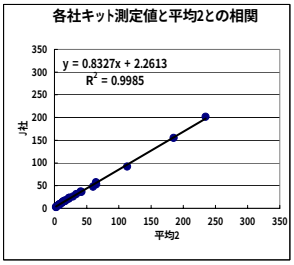


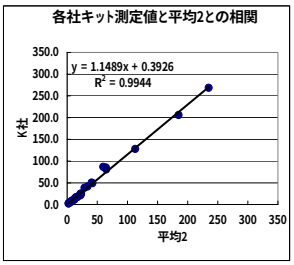










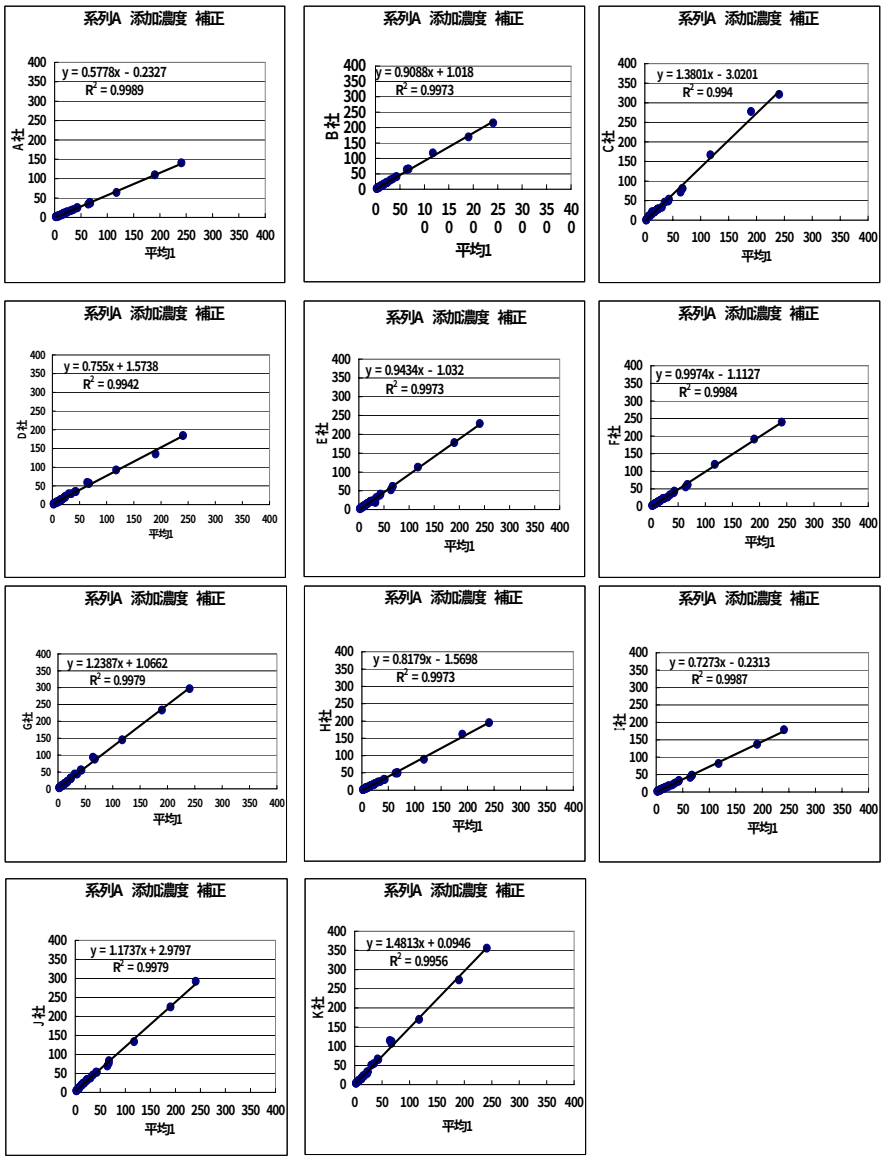


実試料系標準物質候補品による実血清検体の収束性のシミュレーション（系列A）

系列A測定値におけるstd.補正係数による検体補正値

		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	補正後平均1	補正後CV%	補正前平均1	補正前CV%
プール血清	1	2.07	2.52	1.44	2.85	2.58	2.71	3.52	1.77	2.33	4.87	3.98	2.79	36%	2.65	38%
	2	1.92	2.08	-	1.55	2.23	2.27	2.88	1.71	1.80	4.32	3.21	2.40	36%	2.31	37%
	3	2.16	2.82	1.37	1.96	2.81	2.99	3.84	2.04	2.31	5.03	4.53	2.90	39%	2.77	41%
	4	4.50	7.47	10.06	6.87	7.39	7.89	9.60	5.83	6.14	12.45	11.08	8.12	30%	7.74	31%
	5	4.17	7.05	9.02	6.27	7.37	7.59	9.49	5.24	6.16	11.69	10.27	7.67	29%	7.30	31%
	6	3.83	5.97	8.26	4.92	6.33	6.49	8.42	4.84	4.95	10.44	8.63	6.65	31%	6.35	32%
	7	4.38	7.53	11.55	5.81	7.53	7.79	9.84	8.31	5.99	12.31	11.12	8.38	30%	8.14	31%
	8	4.32	6.97	8.91	5.57	6.95	7.16	9.23	5.50	5.57	12.31	10.59	7.55	32%	7.20	34%
	9	6.78	11.25	14.85	9.39	11.47	11.89	14.98	8.90	9.60	18.16	15.97	12.11	29%	11.60	30%
	10	7.03	11.25	16.05	9.53	11.38	11.65	14.84	9.08	9.11	19.10	17.00	12.37	31%	11.81	32%
	11	7.12	12.94	16.94	9.19	12.28	12.99	16.68	8.97	9.46	19.81	16.92	13.03	32%	12.41	33%
	12	6.91	12.20	21.52	9.18	11.54	12.37	15.55	8.68	9.39	18.57	15.25	12.83	35%	12.28	37%
	13	10.44	16.13	22.19	13.47	15.74	16.32	21.01	13.10	12.39	25.05	23.64	17.22	29%	16.54	30%
	14	10.56	17.19	20.95	14.43	16.50	17.24	21.72	12.96	13.22	23.97	23.61	17.48	26%	16.81	27%
	15	10.50	16.44	21.96	13.61	16.62	17.29	22.12	12.99	12.92	24.67	23.08	17.47	28%	16.79	29%
	16	13.72	21.75	27.62	19.48	21.46	22.52	29.20	17.05	16.51	32.00	28.34	22.70	26%	21.81	27%
	17	14.21	21.75	28.89	22.18	21.64	22.61	30.75	18.80	17.07	34.25	33.22	24.12	28%	23.09	29%
	18	13.78	22.60	28.09	19.98	22.35	22.42	32.19	16.82	17.08	33.25	32.04	23.69	29%	22.59	30%
	19	13.14	21.75	27.69	19.70	20.91	22.19	29.24	16.37	17.00	30.87	33.01	22.90	28%	21.86	30%
	20	17.49	29.39	32.70	29.06	25.50	26.13	43.62	23.37	20.33	37.72	50.59	30.54	33%	28.98	35%
	21	19.75	33.31	45.98	29.03	32.25	32.80	43.73	25.39	25.45	45.52	55.02	35.29	31%	33.68	32%
	22	24.61	40.00	48.86	34.48	37.86	38.76	56.10	31.41	30.16	53.48	66.87	42.05	30%	40.17	32%
	23	25.25	40.95	53.86	34.96	41.05	43.32	55.10	30.76	32.81	52.92	64.99	43.27	28%	41.49	29%
	24	36.72	65.78	80.80	56.21	61.60	61.35	87.73	49.23	47.33	83.25	112.68	67.52	32%	64.23	34%
	25	39.07	65.78	80.72	57.42	61.18	62.42	89.24	51.04	48.12	76.86	107.27	67.19	30%	64.39	31%
	26	34.26	64.08	71.85	59.32	52.26	55.35	93.36	49.19	42.06	69.55	114.80	64.19	36%	60.83	38%
	27	64.68	117.76	167.04	92.75	112.57	119.42	145.41	89.02	81.88	133.55	169.70	117.62	29%	113.24	30%
	28	110.02	169.74	277.85	135.34	178.24	191.54	233.65	162.03	136.98	224.94	272.76	190.28	29%	184.83	30%
	29	140.90	215.36	321.24	184.57	228.47	239.71	296.58	194.94	178.89	292.29	355.97	240.81	28%	232.84	29%
	30	4.08	6.96	9.78	6.54	6.95	7.03	9.31	5.40	5.51	11.63	9.88	7.55	30%	7.18	32%
単一ドナー血清	31	7.39	13.90	20.99	13.20	13.51	13.90	17.61	11.73	10.95	23.53	22.11	15.35	33%	14.57	35%
	32	3.38	6.11	10.50	5.69	6.09	6.25	8.09	5.13	4.82	11.45	9.53	7.00	36%	6.63	38%
	33除外	22.67	46.26	73.16	54.33	19.18	20.49	73.57	33.79	17.86	57.80	112.71	48.35	62%	44.10	68%
CV平均														31%		32%

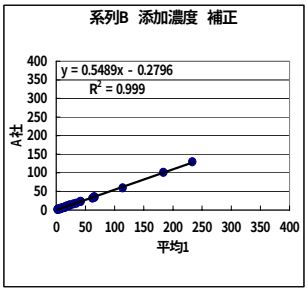
系列A 添加濃度 測定値におけるstd.補正係数による検体補正値と平均値との相関

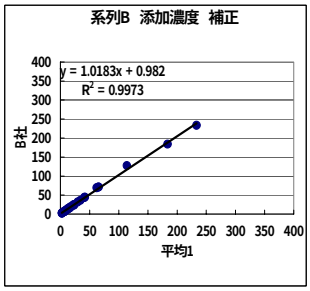


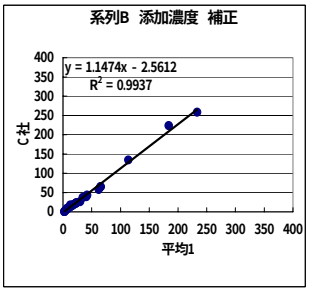
系列B　添加濃度　測定値におけるstd.補正係数による検体補正値

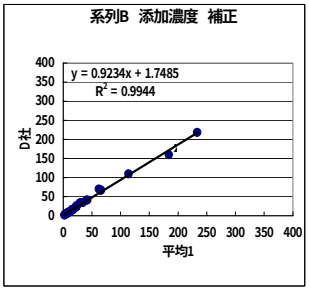
		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	補正後平均1	補正後CV%	補正前平均1	補正前CV%
プール血清	1	1.90	2.74	1.16	3.38	2.37	2.49	2.86	1.78	2.57	5.57	3.66	2.77	42%	2.65	44%
	2	1.76	2.25	-	1.84	2.05	2.09	2.34	1.72	1.99	4.94	2.95	2.39	40%	2.31	42%
	3	1.99	3.06	1.10	2.32	2.59	2.75	3.12	2.06	2.55	5.75	4.17	2.86	43%	2.77	44%
	4	4.14	8.10	8.09	8.14	6.79	7.27	7.80	5.87	6.78	14.24	10.21	7.95	33%	7.74	33%
	5	3.83	7.65	7.26	7.41	6.77	6.99	7.71	5.27	6.80	13.37	9.46	7.50	32%	7.30	33%
	6	3.52	6.48	6.65	5.83	5.82	5.98	6.84	4.87	5.47	11.95	7.95	6.49	33%	6.35	34%
	7	4.03	8.17	9.29	6.87	6.91	7.17	7.99	8.36	6.62	14.09	10.24	8.16	31%	8.14	31%
	8	3.97	7.56	7.17	6.59	6.39	6.60	7.50	5.54	6.14	14.09	9.75	7.39	36%	7.20	37%
	9	6.24	12.20	11.95	11.11	10.54	10.96	12.18	8.96	10.60	20.78	14.71	11.84	31%	11.60	31%
	10	6.46	12.20	12.92	11.27	10.45	10.73	12.06	9.15	10.06	21.86	15.65	12.07	33%	11.81	34%
	11	6.55	14.04	13.63	10.88	11.28	11.97	13.56	9.03	10.45	22.67	15.58	12.69	33%	12.41	34%
	12	6.35	13.23	17.32	10.86	10.60	11.40	12.64	8.74	10.37	21.25	14.04	12.44	33%	12.28	33%
	13	9.60	17.49	17.85	15.94	14.46	15.04	17.08	13.19	13.68	28.66	21.77	16.79	30%	16.54	30%
	14	9.71	18.64	16.86	17.08	15.16	15.88	17.65	13.05	14.60	27.42	21.74	17.07	27%	16.81	27%
	15	9.65	17.83	17.67	16.11	15.27	15.93	17.98	13.08	14.27	28.23	21.25	17.02	28%	16.79	28%
	16	12.62	23.58	22.23	23.05	19.71	20.75	23.73	17.17	18.23	36.62	26.10	22.16	27%	21.81	28%
	17	13.06	23.58	23.25	26.25	19.88	20.83	24.99	18.93	18.85	39.19	30.59	23.58	29%	23.09	30%
	18	12.67	24.51	22.61	23.64	20.54	20.66	26.16	16.93	18.86	38.05	29.51	23.10	29%	22.59	30%
	19	12.08	23.58	22.28	23.32	19.21	20.45	23.77	16.48	18.77	35.32	30.40	22.33	28%	21.86	29%
	20	16.09	31.87	26.31	34.40	23.43	24.08	35.45	23.53	22.45	43.15	46.58	29.76	32%	28.98	32%
	21	18.16	36.13	37.00	34.35	29.63	30.22	35.54	25.57	28.10	52.08	50.66	34.31	29%	33.68	30%
	22	22.63	43.37	39.32	40.81	34.78	35.71	45.59	31.63	33.30	61.19	61.57	40.90	29%	40.17	30%
	23	23.22	44.41	43.34	41.38	37.72	39.91	44.78	30.97	36.23	60.55	59.84	42.03	26%	41.49	26%
	24	33.76	71.33	65.02	66.53	56.60	56.53	71.30	49.57	52.25	95.26	103.76	65.63	31%	64.23	31%
	25	35.92	71.33	64.95	67.96	56.21	57.52	72.53	51.39	53.13	87.94	98.78	65.24	27%	64.39	27%
	26	31.50	69.49	57.82	70.21	48.02	51.00	75.87	49.53	46.44	79.57	105.72	62.29	33%	60.83	34%
	27	59.47	127.70	134.42	109.76	103.43	110.03	118.17	89.63	90.40	152.81	156.27	113.83	25%	113.24	25%
	28	101.15	184.08	223.59	160.18	163.77	176.48	189.88	163.14	151.24	257.38	251.17	183.82	25%	184.83	25%
	29	129.55	233.55	258.51	218.44	209.92	220.87	241.03	196.28	197.52	334.44	327.80	233.45	25%	232.84	25%
	30	3.75	7.55	7.87	7.74	6.39	6.47	7.56	5.44	6.09	13.31	9.09	7.39	33%	7.18	34%
単一ドナー血清	31	6.80	15.07	16.89	15.63	12.41	12.81	14.31	11.81	12.09	26.93	20.36	15.01	35%	14.57	36%
	32	3.11	6.63	8.45	6.74	5.60	5.76	6.57	5.17	5.32	13.10	8.78	6.84	38%	6.63	39%
	33除外	20.84	50.16	58.87	64.30	17.62	18.88	59.79	34.02	19.72	66.13	103.79	46.74	58%	44.10	62%
CV平均														31%		32%

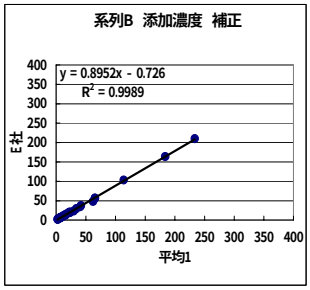
系列B　添加濃度　測定値におけるstd.補正係数による検体補正値と平均値との相関

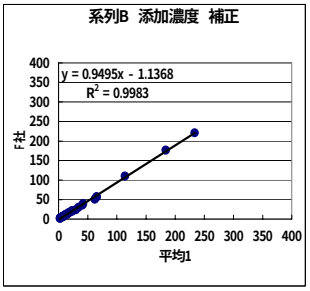


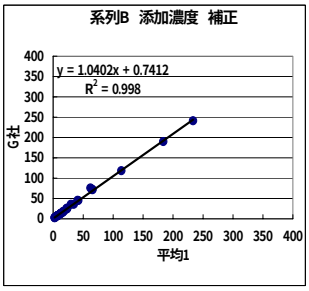


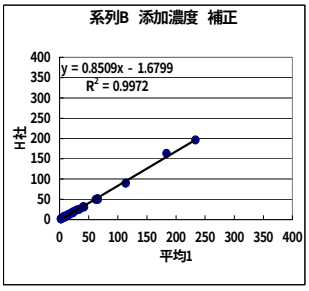


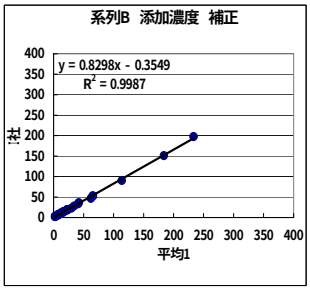


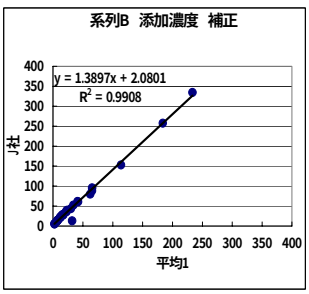


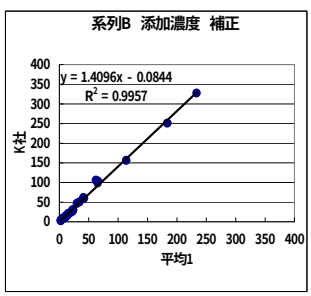








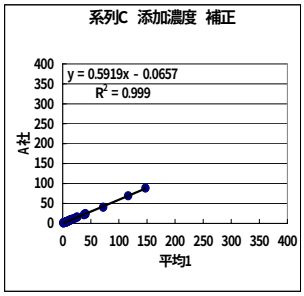


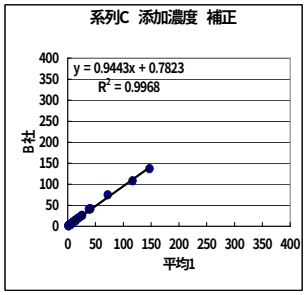


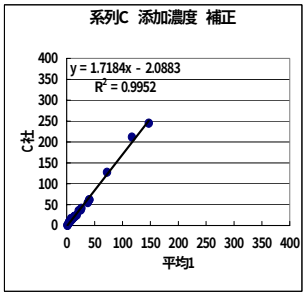
系列C　添加濃度　測定値におけるstd.補正係数による検体補正値

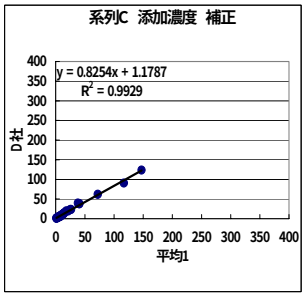
			A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	補正後平均1	補正後CV%	補正前平均1	補正前CV%
プール血清	1		1.30	1.61	1.10	1.91	1.64	1.72	-	1.10	1.72	2.55	1.97	1.66	26%	2.65	17%
	2		1.20	1.32	-	1.04	1.42	1.44	-	1.06	1.33	2.26	1.59	1.41	26%	2.31	16%
	3		1.35	1.80	1.04	1.31	1.79	1.90	-	1.27	1.71	2.63	2.24	1.70	28%	2.77	17%
	4		2.82	4.75	7.66	4.60	4.69	5.01	-	3.63	4.54	6.51	5.48	4.97	27%	7.74	18%
	5		2.61	4.49	6.87	4.20	4.68	4.82	-	3.26	4.56	6.12	5.08	4.67	26%	7.30	17%
	6		2.40	3.80	6.29	3.30	4.02	4.12	-	3.01	3.66	5.46	4.27	4.03	28%	6.35	18%
	7		2.75	4.79	8.80	3.89	4.78	4.94	-	5.17	4.43	6.44	5.50	5.15	31%	8.14	20%
	8		2.71	4.44	6.79	3.73	4.41	4.55	-	3.42	4.11	6.44	5.24	4.58	28%	7.20	18%
	9		4.26	7.16	11.31	6.29	7.28	7.55	-	5.54	7.10	9.50	7.90	7.39	27%	11.60	17%
	10		4.41	7.16	12.23	6.38	7.22	7.39	-	5.65	6.74	10.00	8.41	7.56	29%	11.81	19%
	11		4.47	8.24	12.90	6.16	7.79	8.25	-	5.58	6.99	10.37	8.37	7.91	31%	12.41	19%
	12		4.33	7.76	16.40	6.15	7.33	7.85	-	5.40	6.94	9.72	7.54	7.94	42%	12.28	27%
	13		6.54	10.26	16.90	9.02	9.99	10.36	-	8.15	9.16	13.11	11.69	10.52	27%	16.54	17%
	14		6.62	10.94	15.96	9.66	10.48	10.94	-	8.06	9.77	12.54	11.68	10.67	24%	16.81	15%
	15		6.58	10.46	16.73	9.12	10.55	10.97	-	8.08	9.55	12.91	11.41	10.64	26%	16.79	17%
	16		8.61	13.84	21.05	13.05	13.62	14.29	-	10.61	12.21	16.74	14.02	13.80	24%	21.81	15%
	17		8.91	13.84	22.01	14.85	13.73	14.35	-	11.70	12.62	17.92	16.43	14.64	24%	23.09	16%
	18		8.64	14.38	21.40	13.38	14.19	14.23	-	10.46	12.63	17.40	15.85	14.26	25%	22.59	16%
	19		8.24	13.84	21.09	13.20	13.27	14.08	-	10.19	12.57	16.15	16.33	13.90	25%	21.86	16%
	20		10.97	18.70	24.91	19.47	16.19	16.59	-	14.55	15.03	19.73	25.02	18.12	25%	28.98	15%
	21		12.38	21.20	35.03	19.44	20.47	20.82	-	15.80	18.82	23.82	27.21	21.50	29%	33.68	19%
	22		15.44	25.45	37.22	23.09	24.03	24.60	-	19.55	22.30	27.98	33.07	25.27	25%	40.17	16%
	23		15.84	26.06	41.03	23.42	26.06	27.49	-	19.14	24.26	27.69	32.14	26.31	26%	41.49	17%
	24		23.03	41.86	61.56	37.65	39.10	38.94	-	30.63	34.99	43.56	55.73	40.71	28%	64.23	17%
	25		24.50	41.86	61.50	38.46	38.83	39.62	-	31.76	35.58	40.21	53.05	40.54	26%	64.39	16%
	26		21.49	40.78	54.74	39.73	33.17	35.13	-	30.61	31.10	36.39	56.78	37.99	28%	60.83	18%
	27		40.57	74.94	127.26	62.12	71.46	75.79	-	55.40	60.54	69.87	83.93	72.19	32%	113.24	20%
	28		69.00	108.02	211.68	90.65	113.14	121.56	-	100.83	101.27	117.69	134.90	116.87	32%	184.83	20%
	29		88.37	137.05	244.75	123.62	145.03	152.14	-	121.31	132.26	152.92	176.05	147.35	28%	232.84	18%
	30		2.56	4.43	7.45	4.38	4.41	4.46	-	3.36	4.08	6.08	4.88	4.61	29%	7.18	19%
単一ドナー血清	31		4.64	8.84	15.99	8.84	8.57	8.82	-	7.30	8.10	12.31	10.94	9.44	33%	14.57	21%
	32		2.12	3.89	8.00	3.81	3.87	3.97	-	3.19	3.56	5.99	4.71	4.31	38%	6.63	25%
	33除外		14.22	29.44	55.74	36.39	12.17	13.00	-	21.03	13.21	30.24	55.74	28.12	60%	44.10	38%
CV平均									-						28%		18%

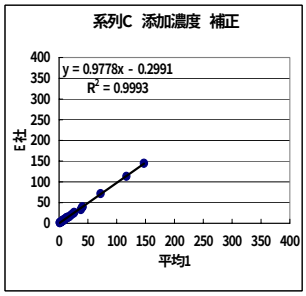
系列C　添加濃度　測定値におけるstd.補正係数による検体補正値と平均値との相関

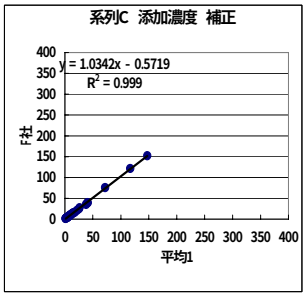


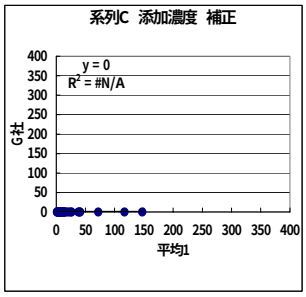


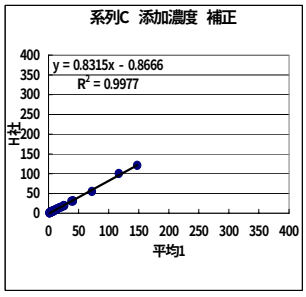


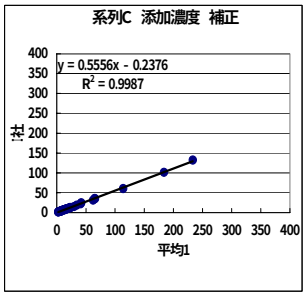


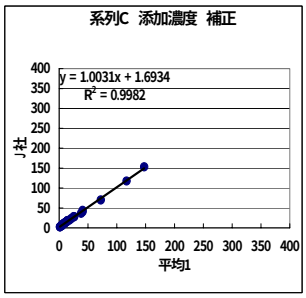


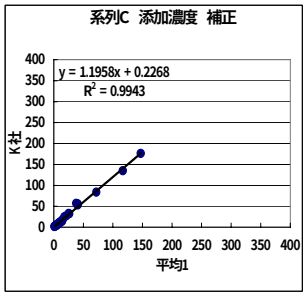












実試料系標準物質候補品による実血清検体の収束性のシミュレーション

各キット間測定値の相関性（実測定値）

（上段：傾き、中断：切片、下段：r）

Y軸＼X軸	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A		1.104 -1.3038 0.9968	0.7101 1.8306 0.9965	1.6942 -2.111 0.9956	1.0151 0.3191 0.9993	0.9255 0.7154 0.9991	1.047 -1.1055 0.9978	0.7242 1.5037 0.9989	1.1123 -0.0683 0.9997	1.1721 -2.4786 0.9993	0.8452 -0.2562 0.9963
B	0.9001 1.3762 0.9968		0.6391 3.0958 0.9944	1.5338 -0.716 0.9982	0.9149 1.6218 0.9976	0.8339 1.9876 0.9971	0.9463 0.2484 0.9988	0.6515 2.7449 0.9952	1.0011 1.3141 0.9966	1.0547 -1.0886 0.9959	0.7644 0.9951 0.9980
C	1.3993 -2.3266 0.9965	1.5465 -4.2049 0.9945		2.3651 -5.2409 0.9889	1.4225 -1.9145 0.9977	1.2983 -1.394 0.9986	1.4639 -3.859 0.9933	1.0153 -0.2301 0.9980	1.5563 -2.3933 0.9965	1.6413 -6.2529 0.9961	1.1798 -2.5608 0.9905
D	0.585 1.4254 0.9956	0.6497 0.5405 0.9982	0.4135 2.6575 0.9889		0.5939 1.6107 0.9950	0.541 1.8611 0.9938	0.6159 0.6665 0.9988	0.423 2.3373 0.9928	0.6507 1.3862 0.9953	0.6857 -0.1808 0.9948	0.4979 1.133 0.9989
E	0.9839 -0.2718 0.9993	1.0878 -1.6023 0.9976	0.6998 1.4953 0.9977	1.6671 -2.3515 0.9950		0.9118 0.3892 0.9998	1.03 -1.3539 0.9971	0.7126 1.2079 0.9982	1.0949 -0.3541 0.9996	1.1538 -2.9921 0.9991	0.8314 -0.515 0.9954
F	1.0787 -0.7092 0.9991	1.1922 -2.157 0.9971	0.7682 1.1722 0.9986	1.8259 -2.9523 0.9938	1.0963 -0.4126 0.9998		1.1289 -1.8837 0.9965	0.7817 0.8903 0.9986	1.2002 -0.7954 0.9992	1.2646 -3.6823 0.9986	0.9108 -0.9475 0.9944
G	0.951 1.1962 0.9978	1.0543 -0.1848 0.9988	0.674 3.0674 0.9933	1.6199 -0.9989 0.9988	0.9652 1.5048 0.9971	0.8797 1.8916 0.9965		0.6887 2.629 0.9966	1.0574 1.1416 0.9973	1.1142 -1.4031 0.9968	0.8079 0.7814 0.9993
H	1.3776 -1.9697 0.9989	1.5202 -3.7406 0.9952	0.9809 0.4139 0.9980	2.3301 -4.7939 0.9928	1.3984 -1.5298 0.9982	1.2758 -1.0135 0.9986	1.4423 -3.4882 0.9966		1.532 -2.0546 0.9984	1.6147 -5.7536 0.9981	1.1639 -2.3017 0.9947
I	0.8986 0.0761 0.9997	0.9922 -1.0963 0.9966	0.638 1.7511 0.9965	1.5224 -1.8198 0.9953	0.9126 0.3491 0.9996	0.832 0.7088 0.9992	0.9406 -0.9073 0.9973	0.6507 1.433 0.9984		1.0538 -2.41 0.9995	0.7595 -0.1525 0.9960
J	0.852 2.3845 0.9993	0.9404 1.2819 0.9959	0.6046 4.0326 0.9961	1.4433 0.5885 0.9948	0.8652 2.6437 0.9991	0.7887 2.9882 0.9986	0.8917 1.4551 0.9968	0.617 3.6671 0.9981	0.9481 2.3122 0.9995		0.7199 2.1725 0.9954
K	1.1745 0.6021 0.9963	1.3029 1.1316 0.9980	0.8315 2.9311 0.9905	2.0038 -2.1788 0.9989	1.1919 0.9872 0.9954	1.0858 1.4826 0.9944	1.2361 -0.9129 0.9993	0.8502 2.3851 0.9947	1.3062 0.524 0.9960	1.3763 -2.6168 0.9954	

傾き	最小	0.4135
	最大	2.3651
	平均	1.056667
SD		0.371012
CV%		35%

各キット間測定値の相関性（較正測定値）

（上段：傾き、中断：切片、下段：r）

Y軸＼X軸	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
A		0.6314 0.1145 0.9930	0.4516 1.2914 0.8946	0.7379 0.1908 0.9933	0.6181 0.7221 0.9964	0.5886 0.7748 0.9962	0.478 -0.0824 0.9957	0.7466 0.7235 0.9938	0.7703 1.0985 0.9912	0.4434 -3.6387 0.9903	0.4012 0.4565 0.9951
B	1.5617 0.291 0.9930		0.7355 0.957 0.9263	1.1656 0.2085 0.9976	0.973 1.1566 0.9974	0.9266 1.241 0.9972	0.752 -0.0827 0.9960	1.176 1.1427 0.9953	1.209 1.8482 0.9892	0.7019 -5.9285 0.9968	0.6322 0.7049 0.9972
C	1.7719 6.6543 0.8946	1.1667 5.2353 0.9263		1.3377 6.1219 0.9091	1.1152 7.2583 0.9077	1.0629 7.3225 0.9083	0.8501 6.3673 0.8940	1.3427 7.3862 0.9023	1.3723 8.4068 0.8915	0.8116 -1.2669 0.9152	0.7166 7.1606 0.8974
D	1.337 0.1305 0.9933	0.8539 -0.0434 0.9976	0.6178 1.2342 0.9091		0.8323 0.898 0.9968	0.7919 0.9901 0.9958	0.6451 -0.2501 0.9983	1.0066 0.8664 0.9953	1.0404 1.3241 0.9945	0.5992 -5.0983 0.9943	0.5418 0.4556 0.9985
E	1.6063 -0.9182 0.9964	1.0225 -1.0118 0.9974	0.7388 0.5607 0.9077	1.1938 -0.8555 0.9968		0.9522 0.0869 0.9998	0.7726 -1.2626 0.9982	1.2075 0.0161 0.9969	1.2455 0.6329 0.9941	0.7181 -7.0975 0.9949	0.6484 -0.3956 0.9977
F	1.6863 -1.0415 0.9962	1.0733 -1.1382 0.9972	0.7762 0.4823 0.9083	1.2522 -0.947 0.9958	1.0497 -0.0759 0.9998		0.8108 -1.3917 0.9977	1.2679 -0.0692 0.9970	1.3054 0.64 0.9924	0.7537 -7.5206 0.9945	0.6805 -0.4824 0.9973
G	2.0741 0.5561 0.9957	1.3192 0.4711 0.9960	0.9402 3.0802 0.8940	1.5449 0.5378 0.9983	1.2898 1.7902 0.9982	1.2278 1.9137 0.9977		1.5594 1.7553 0.9964	1.6113 2.4762 0.9953	0.9261 -7.3604 0.9930	0.839 1.1385 0.9992
H	1.3228 -0.6122 0.9938	0.8424 -0.7034 0.9953	0.6063 0.6966 0.9023	0.9842 -0.5946 0.9953	0.8231 0.1552 0.9969	0.784 0.2188 0.9970	0.6367 -0.921 0.9964		1.0244 0.6981 0.9903	0.5918 -5.7264 0.9930	0.5344 -0.2029 0.9959
I	1.2755 -0.9382 0.9912	0.8094 -0.9277 0.9892	0.5791 0.5708 0.8915	0.9507 -0.9688 0.9945	0.7935 -0.1897 0.9941	0.7544 -0.0812 0.9924	0.6149 -1.2763 0.9953	0.9573 -0.1555 0.9903		0.567 -5.6641 0.9842	0.5148 -0.5178 0.9924
J	2.2119 9.1452 0.9903	1.4158 8.7515 0.9968	1.032 10.522 0.9152	1.6499 9.0572 0.9943	1.3784 10.362 0.9949	1.3124 10.488 0.9945	1.0648 8.6246 0.9930	1.6664 10.329 0.9930	1.7084 11.455 0.9842		0.8959 9.7053 0.9950
K	2.4685 -0.6201 0.9951	1.5729 -0.8179 0.9972	1.124 2.1629 0.8974	1.8401 -0.6822 0.9985	1.5352 0.8427 0.9977	1.4615 0.9888 0.9973	1.1899 -1.2684 0.9992	1.856 0.8076 0.9959	1.9131 1.7878 0.9924	1.105 -10.202 0.9950	

傾き	最小	0.4012
	最大	2.4685
	平均	1.054333
SD		0.417118
CV%		40%

２－４－２－６　黄体形成ホルモン　（LH）

要旨

１）黄体形成ホルモン（Luteinizing hormone：略称 LH）について、「市販キットのデータ標準化について検証を行う」ことを目的とした調査研究を実施した。

２）測定キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループ（WG）を設け、市販されている各キットに用いられるキャリブレーターの値付け方法を確認したところ、本邦にて入手可能な血清実試料標準物質は存在せず、各企業は WHO 標準品を上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることがわかった。

３）本年度は市販キットの測定値互換性について文献調査による収束性の検討を行った。
方法は、各社の相関性検討結果における回帰式を用いた検討と併せて、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」の結果を元に、各キット間の測定値間差を検討した。

４）WG 参加各社へアンケートを実施し、得られた各社キット間の相関性検討結果から、WHO 標準品には数種類あるものの、各社の相関性検討結果からは概ね収束性を示していることが確認された。また、各キット間の相関係数も多くで r=0.95 以上を示していることが確認された。

５）「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」において、低濃度試料（A-1）では各キット間の測定値は満足のいく収束性を示していることが確認された。しかしながら、高濃度試料（A-2）では各キットの測定値にばらつきが認められた。これは各キットの持つ測定範囲の感度差による影響が考えられる。

６）今後、各キットにおけるトレーサビリティ体系を共通にすることでさらなる収束性の改善が期待された。

１．目的

現状把握のための調査として、本調査研究項目群、C5-WG（プロラクチン、E2、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）の内、LH について「市販キットにおけるデータの標準化についての検証」を目的とした。

２．委員会の構成

本委員会は、調査研究項目群の柱１　C5-WGで、メンバーの構成を下記に記す。
なお WG 発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は 18 年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学

	氏名	所属
アドバイザー	桑克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 (PRL 本試験計画)	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協） （兼）副責任者	大和隆	協和メデックス株式会社
実行計画担当者 (PRL, LH, FSH)	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 (E2, プロゲステロン, テストステロン) (E2 本試験計画)	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者（PRL）	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者（E2）	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者（LH）	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者（FSH）	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 (プロゲステロン)	松本幹雄	ロッシュ･ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者（テストステロン）	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロッシュ･ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）

第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　（臨床検査薬協会会議室）
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第９回会合：2007/02/20（火）13：30～16：30　（臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

WG 参加各社にアンケートを実施し､キットの基本性能及び他キットとの相関性を確認した。重ねて､「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を調査し、各社キット間の測定値の互換性を確認した。

４－１　測定値の互換性の現状

キット製造各社へキット名、検体種、測定原理、単位、測定範囲、抗体種、反応系に影響する物質、校正用標準品情報、検体量などの基本性能とともに、各社キットと他キットとの相関データ（文献、各社社内データ）についてアンケート調査を行った。

１）患者血清を用いた相関性データ（アンケート調査報告）

患者血清を用いた検討における各キット間の相関性を確認したところ、14 相関データ中７データでは傾きが±10%以内に収まっている上、相関係数も r ＝0.95 以上と良好な収束性を示していたが、他７データ中２データでは傾きで 20%以上の差を示しており、同一測定値として取り扱うことは出来ないことが確認された。また、残りの５データに関しては傾きが 0.84、1.15、1.18、または相関係数が r ＝0.928、0.942 という部分があり若干の測定値間差が見受けられた。

X 軸	Y 軸	相関係数	傾き	切片	n 数	測定範囲（mIU/mL）
A	B	0.925	0.27	0.38	2918	0-200
B	D	0.942	0.98	0.97	232	0-60
B	E	0.989	0.96	-0.37	78	0-80
B	E	0.928	0.92	1.36	76	0-90
B	J	0.993	0.93	-0.03	98	0.1-250
B	M	0.959	1.10	3.89	292	0.5-70
F	D	0.994	1.45	-0.66	53	0-120
G	E	0.993	1.04	0.32	100	0-80
G	J	0.955	0.99	0.37	157	0.1-250
D	I	0.990	0.84	0.25	102	0-120
D	C	0.987	0.95	-1.86	50	0-60
M	D	0.995	1.15	-0.40	232	0-60
H	D	0.994	1.18	-0.01	70	0-30
K	L	0.988	1.03	0.12	96	0-60

今回の調査によって得た 14 相関データの内、11 データでは相関係数が r =0.95 以上であることを鑑みると、統一した標準物質にて校正することにより、各キット間の互換性はさらに向上する可能性が認められた。

2）イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ

「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」で報告された 14 キットについてそれぞれの報告値を比較した。

参加 14 キットの平均値に対する各キット測定値比率を算出したところ、低濃度試料(A-1)では14キット中１キットのみが全14キット平均に対して±20%以上の乖離を示しており、高濃度試料（A-2）では±20%を超えたものは３キットで、他の 11 キットでは概ね良好な収束性を示している。高濃度試料の乖離が大きい原因としては、サーベイ報告書にも記されている通り、測定感度などのキット特有な問題が残っているが、サーベイ用試料には保存剤等の添加もあるためマトリックスの影響も念頭に置く必要も残る。しかしながら、当報告結果において、低濃度試料（A-1）では概ね各キット間における測定値は収束していることが確認された。

標準準拠品	キット名	測定試料 A-1 (mIU/mL)	測定試料 A-2 (mIU/mL)	各キット測定値 /全 14 キット平均値 (A-1)	各キット測定値 /全 14 キット平均値 (A-2)
WHO 1st IRP 68/40	**a**	1.50	30.82	94.7%	68.7%
	b	1.42	43.81	89.7%	97.7%
	c	1.68	48.95	106.1%	109.1%
WHO 2nd IS 80/552	**d**	1.33	38.45	84.0%	85.7%
	e	1.68	47.76	105.8%	106.5%
	f	1.86	46.22	117.1%	103.0%
	g	1.60	48.39	101.0%	107.9%
	h	1.58	47.45	99.8%	105.8%
	i	1.42	41.58	89.7%	92.7%
	j	1.42	43.67	89.7%	97.3%
	k	1.49	45.97	94.1%	102.5%
	l	2.24	66.45	141.5%	148.1%
	m	1.65	45.85	104.2%	102.2%
	n	1.31	32.71	82.7%	72.9%
	全 14 キット平均値	1.58	44.86	100.0%	100.0%

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

参加各社のアンケート調査から、２種類の公的標準品(NIBSC)を上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることが確認された。

キャリブレータの 値付け方法・基準物質	件数	キット
NIBSC code 68/40 (WHO 1st IRP)	4	A, B, F, G
NIBSC code 80/552 (WHO 2nd IS)	9	C, D, E, H, I, J, K, L, M

４－３　キット間差の要因について

先にも述べたが、各キットの値付けにおける基準物質は２種類の公的標準品(NIBSC)を上位標準としたトレーサビリティ体系となっている。しかし、各キットの上位標準物質が同一であった場合においても、測定値に差が認められた。実際には、標準物質を様々なベースに溶解し測定しているため、キットにより反応性に差が生じている可能性がある。また、NIBSC code 68/40 はすでに供給が終了しているため、全てのキットに共通の標準品を元にトレーサビリティ体系をとることでよりキット間の互換性は高まるものと考えられた。

４－４　標準化に向けた実行計画

評価用実検体と評価用標準品を各社のキットで測定し、データ解析し標準品作成のための検討をする。

１）公的標準品・市販精製品の入手

公的標準品が複数存在する場合は、文献調査などによって最も適切と考えられるものを選定する。純度、安定供給などを考慮して市販精製品を選定する。

（公的標準品）

・NIBSC 製　Coded 80/552（2nd IS 、ヒト下垂体由来）

・NIBSC 製　Coded 96/602（1st IS、リコンビナント）

（市販精製品）

・バイオパシフィック社製（ヒト下垂体由来精製品）

・ロート製薬社製（リコンビナント品）

２）評価用標準品の準備

公的標準品または市販精製品を緩衝液及びヒト血清に添加した評価用標準品を調整する。

調製濃度（理論値）：0、2、5、20、50、100、200 mIU/mL

3）評価用実検体の準備

実検体を入手し、濃度ごとにプールして、30 例を調整する。

・0.25 - 10 ng/mL　　：10 検体
・10 - 20 ng/mL　　：10 検体
・20 - 30 ng/mL　　：10 検体

※ 不妊治療やホルモン補充療法（HRT）検体は除外

※ 属性別にプール：　①男性
②女性（思春期前）
③女性（成人、閉経前）
④女性（50 歳以上あるいは閉経後）
⑤女性（妊婦）

4）プレテストの実施

小規模な前評価を実施し、検討条件の絞込みを行なう。

5）各社キットでの測定

参加メーカーによる評価サンプルを測定する。

6）結果集計

各社の評価サンプルの測定値を基に各社の相関データを作成し、データの解析を行う。

5．今後の課題

今後、共通の標準品を設定し、それを基にしたトレーサビリティ体系を組むことで測定値の互換性が向上するかの確認試験を行うことが有効であると考える。

しかしながら、その設定濃度やマトリックスの影響などによる乖離の可能性も十分視野に入れ、検討を行う必要がある。

6．結び

平成 18 年度の調査研究において市販キットの互換性を確認した。LH は、これまでの結果を基に実試料標準物質候補品作成の有効性が高い項目であることが確認された。

これまでの文献調査結果から実試料標準物質候補品作成の有効性が高い項目であると考えられた。

２－４－２－７　卵胞刺激ホルモン（FSH）

要旨

１）卵胞刺激ホルモン(Follicle Stimulating Hormone 略称：FSH)について、「市販キットのデータ標準化について検証を行う」ことを目的とした調査研究を実施した。

２）測定キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループ(WG)を設け、市販されている各キットに用いられるキャリブレーターの値付け方法を確認したところ、本邦にて入手可能な血清実試料標準物質は存在せず、各社は WHO 標準品を上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることがわかった。

３）本年度は市販キットの測定値互換性について文献調査による収束性の検討を行った。方法は各社の相関性検討結果における回帰式を用いた検討と併せて、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」の結果を元に、各キット間の測定値間差を検討した。

４）各社の相関性検討結果から、各キット間の相関係数は r=0.98 以上を示しており、回帰式の傾きは+31%から－22%の間であった。

５）「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」の結果から、低濃度試料では、最大で 2 倍の差が認められたが、概ね良好な収束性を示していた。

６）今後の課題としては、各社共通の標準品を設定し、それを元にしたトレーサビリティ体系を組むことでさらなる収束性の改善が期待された。

１．目的

現状把握のための調査として、本調査研究項目群、C5-WG（E2、プロラクチン、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）内の FSH について、「市販キットのデータの標準化についての検証」を目的とした。

２．委員会構成

本委員会は、調査研究項目群の柱 1C5-WG で、メンバーの構成を下記に記す。
なお、WG 発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は平成 18 年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学
アドバイザー	桑克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 （兼）PRL 本試験計画	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協）	大和隆	協和メデックス株式会社

	氏名	所属
（兼）副責任者		
実行計画担当者 （PRL,LH,FSH）	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 （E2,プロゲステロン,テストステロン）	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者（PRL）	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者（E2）	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者（LH）	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者（FSH）	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 （プロゲステロン）	松本幹雄	ロシュ･ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者（テストステロン）	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　（臨床検査薬協会会議室）
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第９回会合：2007/02/20（火）13：30～16：30　（臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

WG 参加各社に、アンケートを実施し、キットの基本性能および他キットとの相関性を確認した。

重ねて、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を調査し、各社キット間の測定値の互換性を確認した。

４－１　測定値の互換性の現状

キット製造各社へキット名、検体種、測定原理、単位、測定範囲、抗体種、反応系に影響する物質、校正用標準品情報、検体量などの基本性能とともに、各社キットと他キットとの相関データ（文献、各社社内データ）についてアンケート調査を行った。

１）患者試料を用いた相関性データ（アンケート調査報告）

患者血清を用いた検討における各キット間の相関性を確認したところ、16 相関データ中、9 データでは、傾きが±10%以内に収まっている上、相関係数も r=0.98 以上と良好な収束性を示していたが、他 7 相関データ中 5 データでは傾きが±20%以上の差を示しており、同一測定値として取り扱うことは出来ないことが確認された。また、残りの 2 データについては、若干の測定値間差が見受けられた。

今回の調査によって得られた 16 相関データのうち、全ての相関係数が、0.98 以上であることから、統一した標準物質にて校正することにより、各キット間の互換性はさらに向上する可能性が認められた。

X 軸	Y 軸	相関係数	傾き	切片	n 数	測定範囲 (mIU/mL)
A	B	1.00	1.10	-0.83	100	0-60
H	B	0.99	1.31	1.27	52	0-200
N	B	0.98	1.15	-0.21	70	0-30
B	L	1.00	0.98	0.08	60	0-180
E	D	0.99	1.07	0.31	125	0.1-250
A	D	0.99	0.97	-0.19	99	0.1-250
C	N	0.99	1.22	-0.58	-	0-100
A	C	1.00	0.80	-0.71	79	0-80
O	C	1.00	1.04	-1.00	176	0-130
E	C	0.99	0.80	-0.46	100	0-160
A	J	0.99	0.85	2.02	262	0.5-170
J	K	1.00	0.99	0.10	120	0-133
B	M	0.98	0.94	-0.63	103	0-200
I	G	0.99	1.06	-1.29	429	0-150
P	F	0.98	0.92	-0.77	119	0-35
A	F	0.99	0.77	0.83	80	0-140

2）イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ

「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」で報告された 13 キットについてキット間の測定値を比較した。

参加 13 キットの平均値に対する各キットの測定値比率を算出したところ、低濃度試料(A-1)では、13キット中2キットが全13キット平均値に対して±20%以上の乖離を示しているものの、高濃度試料(A-2)では±20%を超えたものは、1 キットのみで、他の 12 キットでは、概ね良好な収束性を示している。低濃度試料の乖離が大きい原因としては、測定感度などのキット特有な問題が残っているが、サーベイ用試料には保存剤等の添加もあるためマトリックスの影響も念頭に置く必要も残る。しかしながら、当報告結果において、高濃度試料（A-2）では概ね各キット間における測定値は収束していることが確認された。

キット名	測定試料 A-1	測定試料 A-2	全 13 キット平均値/各キット測定値 (A-1)	全 13 キット平均値/各キット測定値 (A-2)
a	4.48	45.81	94%	99%
b	5.02	45.20	106%	97%
c	4.28	41.99	90%	90%
d	4.19	36.61	88%	79%
e	5.32	45.63	112%	98%
f	5.40	46.92	114%	101%
g	3.37	39.80	71%	86%
h	5.45	53.35	115%	115%
i	5.03	47.59	106%	102%
j	4.41	40.64	93%	87%
k	4.05	53.46	85%	115%
l	6.75	54.07	142%	116%
m	4.05	53.20	85%	114%
全 13 キット平均値	4.75	46.48		

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

参加各社のアンケート調査から、3 種類の公的標準品(NIBSC)を上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることが確認された。

キャリブレーターの 値付け方法･基準物質	件数	キット	
NIBSC code 78/549(2nd IRP)	8	A D E G H I J K	ヒト下垂体由来精製品
NIBSC code 92/510 (1st IS)	1	F	リコンビナント品
NIBSC code 94/632	2	B C	ヒト下垂体由来製製品

４－３　キット差の要因について

各キットの上位標準物質が同一であった場合においても、測定値に差が認められた。実際には、標準物質を様々なベースに溶解し測定しているため、キットにより反応性に差が生じている可能性がある。また、NIBSC code 78/549 は、すでに供給が終了しており、NIBSC 94/632 を標準品として使用している場合もあり、全てのキットに共通の標準品を元にトレーサビリティ体系をとることでよりキット間の互換性は高まるものと考えられた。

４－４　標準化に向けた実行計画

評価用実検体と評価用標準品を各社のキットで測定し、データ解析し標準品作成のための検討をする。

１）公的標準品・市販精製品の入手

公的標準品が複数存在する場合は、文献調査などによって最も適切と考えられるものを選定する。純度、安定供給などを考慮して市販精製品を選定する。

（公的標準品）

- NIBSC　IS　83/575（ヒト下垂体由来精製品）
- NIBSC　1st　IS　92/510（リコンビナント品）

（市販精製品）

- バイオパシフィック社製　FSH（ヒト下垂体由来精製品）
- プロスペック社製　FSH（リコンビナント品）

２）評価用標準品の準備

公的標準品または市販精製品を緩衝液およびヒト血清に添加した評価用標準品を作成する。

調製濃度（理論値）: 0，2，5，20，50，100，200mIU/mL

3）評価用実検体の準備

実検体を入手し、濃度ごとにプールして、30 例を調製する。

・0‐10mIU/mL　：10 検体

・10‐50mIU/mL　：10 検体

・50‐150mIU/mL ：10 検体

不妊治療やホルモン補充療法（HRT）検体は除外

属性別にプール：　①男性

②女性（思春期前）

③女性（成人、閉経前）

④女性（50 歳以上あるいは閉経後）

⑤女性（妊婦）

4）プレテストの実施

小規模な前評価を実施し、検討条件の絞込みを行なう。

5）各社キットでの測定

参加メーカーによる評価サンプルを測定する。

6）結果集計

各社の評価サンプルの測定値を用い各社の相関データを作成し、データの解析を行う。

5．今後の課題

今後、共通の標準品を設定し、それを基にしたトレーサビリティ体系を組むことで測定値の互換性が向上するかの確認試験を行うことが有効であると考える。

しかしながら、その設定濃度やマトリックスの影響などによる乖離の可能性も十分視野に入れ、検討を行う必要がある。

6．結び

平成 18 年度の調査研究において市販キットの互換性を確認した。FSH は、これまでの文献調査結果から実試料標準物質候補品作成の有効性が高い項目であると考えられた。

２－４－２－８　エストラジオール

要旨

1）エストラジオール（E2）の測定について、実試料系標準物質によるデータ統一化の可能性とその時の問題点に関する調査研究および実試料系標準物質候補品を調製・使用したキット間のデータ標準化の検証を行うことを目的とした調査研究を実施した。

2）キットを販売しているメーカーを中心にワーキンググループ（WG）を設け、キット、キャリブレーター、トレーサビリティ等の調査を実施した。エストラジオールに関しては、各企業は米国薬局方（USP)、高純度合成品等の高純度標準物質または IRMM を直近上位標準としたトレーサビリティ体系となっていることがわかった。

3）本年度はキットの互換性の調査および実試料系標準物質候補品を使用した試験で測定値の収束性について検討した。方法はキャリブレーターとして各メーカー指定のキャリブレーター、IRMM および実試料系標準物質候補品を用いて実血清検体の測定値の収束性を評価した。

4）解析方法は各キット間の測定値の収束性を相関係数および回帰式より検証した。また、反応性評価は相関図における実血清検体の分布と IRMM および実試料系標準物質候補品の分布を比較することにより行った。

5）その結果、現状で相関係数は良好であり大きく乖離する検体はないが、キット間によって回帰式の傾きに差異が確認された。また、実試料系標準物質候補品を各キットの共通キャリブレーターとした場合でも、キット間による回帰式の傾きは解消されず、人工的に調製した実試料系標準物質では、測定値の統一化は困難であることが確認された。

6）今後は、ヒトプール血清（抗原未添加）を実試料系標準物質としたときの測定値の収束性を再検証した後に、ヒトプール血清の性状規格、基準測定操作法、値付けの手順および認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルの作成作業がある。

１．目的

本調査研究項目群、C5-WG（プロラクチン（PRL)、E2、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）内の E2 について、「実試料系標準物質候補品を調製・使用し、各社キットのデータの標準化について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

本委員会は、調査研究項目群の柱１C5-WGで、メンバーの構成を下記に記す。なおWG発足以降、メンバーの入れ替わりがあったため、下表は18年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学
アドバイザー	桑克彦	筑波大学

	氏名	所属
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 （PRL 本試験計画）	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協） （兼）副責任者	大和隆	協和メデックス株式会社
実行計画担当者 （PRL,LH,FSH）	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 （E2，プロゲステロン，テストステロン） （E2 本試験計画）	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者（PRL）	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者（E2）	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者（LH）	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者（FSH）	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 （プロゲステロン）	松本幹雄	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者 （テストステロン）	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　（臨床検査薬協会会議室）
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）

第９回会合：2007/02/20（火）13：30～　（臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

１）現状の調査

①官報で指定されるキャリブレーター

厚生労働省告示第 120 号では、薬事法第 14 条第 1 項の規定により厚生労働大臣が基準を定めて指定する体外診断用医薬品の校正用として、以下の 2 品目が指定されている。

(4)　インステチュート・フォア　リファレンス　マテリアルズ　アンド　メジャーメント（IRMM）

(5)　日本公定書協会標準品（旧国立医薬品食品衛生研究所）

②市販されている標準物質

参加企業にアンケート調査を実施した結果、日本におけるエストラジオールの標準物質としては、日本公定書協会標準品、USP および自家調製品が存在した。

また、性能確認用のリファレンスマテリアルとしては IRMM から供給される BCR576,577,578 が広く用いられていた。各キットのキャリブレーターの値付け方法および基準物質の一覧を以下に示した。

キャリブレーターの値付け方法・基準物質	件数	キット
日本公定書協会標準品	1	G
USP	1	E
IRMM	2	C,F
自家調製品	3	B,H,I
ID-GC/MS	2	A,D

③精度管理試料でのキット間差の実態調査

2005 年度に実施された、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」（表. 1）によると、RI 法が 9 施設と non-RI 法 50 施設の合わせて 59 施設の参加があった。キット内の変動係数 CV（%）は、試料 1、試料 2 ともに 11.8%であった。キット間の CV は 51～68%と大きかった。

キット間変動の大きい原因の一つには、特定のキットの測定結果が他のキットよりも倍以上高値に報告されることや、1/2 程度に報告されることによる。これはキットに使用される抗体の交差性やキットのキャリブレーターの値付け方法が各社で異なること等によるものと考えられる。なお、コントロールサーベイに用いられているサンプルは、人工的に調製されたものであるため、実血清検体を反映していない可能性がある。実際のキット間差を把握するためには実血清検体を用いた比較検討が重要と考えられる。

2）現状把握のための実験（プレテスト 1）

エストラジオールにおけるキット間測定値の互換性に関するデータが無い為、各キットの互換性の調査および WG 作製の実試料系標準物質候補品および実血清検体を使用した収束性のシミュレーションを実施した。

実試料系標準物質候補品を作製するにあたって、先ずはベースの検討を行った。

	純物質	ベース
系列 1	Sigma	緩衝液（50mM トリス塩酸緩衝液、1% BSA、pH7.5）
系列 2	Sigma	ヒト血清（BiosPacific）
系列 3	Sigma	ヒト血清（Scantibodies Laboratory, Inc）
系列 4	Sigma	ヒト血清（Golden West Biological）

上記、4 種類のベースに Sigma 社のエストラジオールを添加して、エストラジオールの理論濃度を 0,100,1500pg/mL に調製した。調製された標準品と実血清検体 4 検体を WG 参加施設 5 社（6 キット）に送付し測定を依頼した。また、合わせて外部に検査を依頼して同じ検体を ID-LC/MS でも測定した（施設.a）。

なお、検討に用いた実血清検体は、「ＪＣＣＬＳ標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解（2006 年 1 月 10 日）」に従って配布した。

各キットの測定プロトコルに従い、各キット指定のキャリブレーターでキャリブレーションしたときの、実血清検体の測定値のキット間変動係数 CV は 15～38%を示した（表. 2）。

各キットの測定結果から、①実血清検体の測定値を一致させるための補正係数により測定結果を補正した場合、②ヒト血清ベース（系列２～４）の理論値に測定値を一致させるように測定結果を補正した場合および③ヒト血清ベース（系列２～４）の測定値を ID-LC/MS の測定値と一致させるたように測定結果を補正した場合を検討した（表. 3）。

その結果、系列 1 の緩衝液ベースでは理論値 0pg/mL でも値を打ち出してしまうことや、理論濃度に対して大幅に高い結果になることからベースとしては不適当と判断した。系列 2 から 4 の比較においては、系列 2 と系列 3 はほぼ同じ結果であった。また、③の補正において実血清検体の測定値が ID-LC/MS の測定値に最も近似するものは系列 4 であった。よって、ベースとしては系列 4 が最適であると判断した。

3）実試料系標準候補品の凍結による影響確認（プレテスト 2）

実試料系標準物質候補品および IRMM は、サンプル調製後に凍結保存され、凍結状態にて各社に配送された。そこで、それぞれの調製サンプルの凍結による影響を評価した。

代表的なキットとして、キット H，I を用いて凍結前の液状サンプルを比較対照として凍結保存後のサンプルの測定値と比較した。その結果、全てのサンプルで変動率は 10%以内であったため、検体の凍結による影響は無いと判断した。

4）現状把握のための実験（本試験）

①　ID-LC/MS の評価

エストラジオールのトレーサビリティ体系の中で基準測定操作法としてはID-LC/MSが候補として挙げられる。そこで、ID-GC/MSで値付けされているBCR576,578をID-LC/MSで測定し、表示値に対する回収率を評価した。ID-LC/MSによる表示値に対する回収率はBCR576（82%）、BCR578（66%）と低い結果であった。

② 各キット指定のキャリブレーターを使用した場合

各キットの測定プロトコルに従い、各キット指定のキャリブレーターでキャリブレーションし、IRMMから供給されたBCR576,577,578を測定して表示値に対する回収率（図.1）と各キット報告値の平均値に対する回収率を計算した（表.4）。また、実血清検体24例（プール血清）を測定し、キット間の測定値比較および収束性を確認した（図.2）。

BCR576,577,578の表示値に対する回収率はそれぞれBCR576（94～291%）、BCR577（76～117%）、BCR578（61～118%）であり、平均値に対する回収率はそれぞれBCR576（66～205%）、BCR577（82～125%）、BCR578（70～135%）であった。エストラジオール低濃度のBCR576はキット間で大きな差違が確認された。各キット間の相関性の評価では、ID-LC/MSを対照とした場合BCRの回収率に問題があることから、全てのキットの平均値を対照とした。その結果、各キットの相関係数は0.992以上であり乖離する検体は無く良好な収束性が確認された。但し、キットによって回帰式の傾きは大きく2群（群1：A、B、E、F、G、群2：C、D、H、I）に分かれることが確認され、回帰式の傾きは0.758～1.390を示した（表.5）。

また、実血清検体、IRMM、実試料系標準物質候補品の反応性評価では、相関図において大きく乖離する検体は確認されず、それぞれの検体間の反応性に大きな差異はないことが確認された（図.4）。

③ 実試料系標準物質候補品をキャリブレーターとして使用した場合

実試料系標準物質候補品を共通のキャリブレーターとして各キットの測定値を濃度換算し、BCR576,577,578の表示値に対する回収率と各キットの平均値に対する回収率および実血清検体24例を測定したときのキット間の測定値と収束性を確認した（図.3）。

その結果、BCR576,577,578の表示値に対する回収率は、それぞれBCR576（0～396%）、BCR577（66～135%）、BCR578（76～85%）であり、平均値に対する回収率は、それぞれBCR576（0～278%）、BCR577（71～144%）、BCR578（82～97%）であった。また、各キット間の相関性では、前項同様に全てのキットの平均値を対照とした場合、各キットとの相関係数は0.992以上であり、濃度換算前と同様に乖離する検体は無く良好な収束性が確認された。但し、濃度換算前と同様にキットによって回帰式の傾きには差異が生じ、大きく3群（群1：B、E、H、I、群2：A、D、群3：C、F、G）に分かれることが確認された。その時の回帰式の傾きは0.805～1.272であった（表.6）。

5）考察

エストラジオールにおける測定値の互換性に関するデータを評価したが、現状でもキット

間で大きく乖離する検体は無く、相関係数としては良好なものであった。但し、今回の検討において使用した検体はプール血清であるため、検体の個体間差が平均化している可能性がある。

一方、回帰式の傾きは大きく 2 群に分かれており、測定値の統一化が必要である。そこで、今回実試料系標準物質候補品を調製し、各キット共通のキャリブレーターとして使用した場合の検討を行なったが、同様に回帰式の傾きは数群に分かれ、測定値の統一化は達成できなかった。

エストラジオールの測定系は競合反応を原理としているため、測定検体のマトリックスの影響などを受けやすい。今回検討した人工的にエストラジオールを添加した実試料系標準物質候補品では、実際の検体のマトリクッスと僅かに異なるため各キット共通のキャリブレーターとして使用した場合でも、実血清検体の測定値ではキット間の相関において回帰式の傾きで差異が生じたものと推測された。

4－2　標準化および標準物質の設定経過

4－1の結果に基づき、人工的に調製した実試料系標準物質では測定値の統一化が困難であったことから、今後ヒトプール血清（抗原未添加）を用いた実試料系標準物質での測定値の収束性を検討することが必要と考えられる。

4－3　値付けの測定方法の選択

基準測定操作法の候補としては、現在 ID-LC/MS が挙げられる。しかし、今回検討した BCR576,578 の回収率試験では、十分な回収率が得られなかった。今後、その原因検討として、今回依頼した施設とは別の施設でも ID-LC/MS による確認を行い、BCR の表示値に問題が無いか、ID-LC/MS の測定に問題が無いかを検証する必要がある。

検討の結果、ID-LC/MS による値付けが困難な場合は、市販キットによる共同実験での値付けを検討する。

5．標準物質の設定概要

今後設定する。

6．標準物質の作製プロトコル

今後設定する。

7．今後の課題

平成 18 年度は、人工的に調製した実試料系標準物質の検討において、各キットの共通標準品とした場合でも、キット間によって回帰式の傾きに差が確認され、測定値の統一化は困難であることが確認された。今後は、ヒトプール血清（抗原未添加）などの実試料を用いた実試料系標準物質の検討が必要である。また、基準測定操作法としての ID-LC/MS の妥当性も検討が必要である。

８．結び

平成 18 年度の研究において、エストラジオールの実試料系標準物質候補品の作成を行い、かつシミュレーションによる検証試験を行ったが、測定値の統一化は達成されなかった。今後は残る課題を解決して、ヒトプール血清の性状規格、基準測定操作法、値付けの手順、認証値と不確かさ等を含めて実試料系標準物質の作製プロトコルの作成作業を行う。

今回の検討に使用しました試料の分析や提供および種々のご助言をいただきました慶應義塾大学村田　満教授に深謝いたします。

表．１　コントロールサーベイ成績

項目：エストラジオール

キット名	平均値		全 14 キット平均値/各キット測定値	
	試料 A-1	試料 A-2	試料 A-1	試料 A-2
a	62.15	261.83	71%	47%
	61.34	243.23	71%	44%
b	72.06	439.60	83%	79%
	73.58	444.30	85%	80%
c	65.58	320.49	75%	58%
d	27.38	399.00	31%	72%
		385.38		70%
e	75.83	467.17	87%	84%
f	210.87	993.79	242%	179%
g	60.42	344.15	69%	62%
h	60.23	598.00	69%	108%
i	37.02	766.23	43%	138%
j	266.70	1167.75	307%	211%
k	43.50	221.50	50%	40%
l	67.60	475.60	78%	86%
m	50.59	654.20	58%	118%
n	118.00	644.50	136%	116%
全 14 キット平均値	87.00	553.84		

単位：pg/mL

各欄下段の数字は、M±2SD 以内のデータによる再計算値

全 14 キット平均値は、各欄上段の数字の平均値

総平均値		Within Kit Variation [CV(%)]		Between Kit Variation [CV(%)]	
試料 A-1	試料 A-2	試料 A-1	試料 A-2	試料 A-1	試料 A-2
71.28	427.13	11.8 (59)	11.8 (58)	67.6 (14)	51.2 (14)

単位：pg/mL　　（　）は測定係数

＊「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表

表．２　各社指定のキャリブレーターでキャリブレーションした測定結果

(pg/ml)

サンプル	添加濃度	ID-LC/MS	キットB	キットC	キットE	キットG	キットH	キットI	Mean	SD	CV
系列1	0	-	9.6	<L	19.7	22.2	19.6	23.2	-	-	-
	100	-	236.2	98.3	196.7	182.0	164.9	183.4	176.9	45.4	26%
	1500	-	>H	1949.0	3123.7	>H	2220.0	2462.5	2438.8	502.5	21%
系列2	0	-	<L	<L	<L	<L	<L	<L	-	-	-
	100	-	69.4	71.1	59.9	63.7	106.8	112.3	80.5	22.9	28%
	1500	-	1169.1	1496.0	1101.2	986.8	1638.0	1731.5	1353.8	308.6	23%
系列3	0	-	<L	<L	<L	<L	<L	<L	-	-	-
	100	109.8	69.0	82.2	62.9	62.5	107.5	118.6	83.8	24.0	29%
	1500	1512.4	1188.0	1581.0	1128.7	995.3	1674.5	1802.5	1395.0	332.4	24%
系列4	0	-	<L	<L	<L	<L	<L	<L	-	-	-
	100	114.5	91.5	95.0	81.7	78.5	123.3	136.6	101.1	23.5	23%
	1500	1580.3	1374.7	1879.0	1272.8	1173.1	1842.5	2023.5	1594.3	362.2	23%
実検体1	-	22.3	36.6	-	11.4	22.3	22.0	24.9	23.4	9.0	38%
実検体2	-	123.1	114.5	148.0	95.5	111.2	105.7	122.0	116.1	18.0	15%
実検体3	-	429.2	372.6	504.4	338.9	344.3	478.5	491.8	421.7	77.8	18%
実検体4	-	831.5	777.8	1073.0	709.9	690.8	1007.0	1020.0	879.7	172.1	20%

表．３　ID-LC/MS での測定値で補正した測定結果

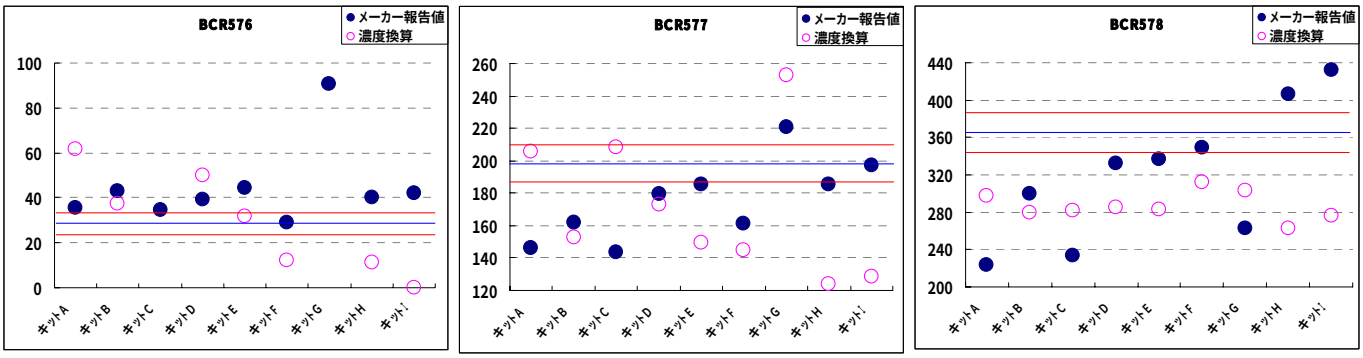
	サンプル	ID-LC/MS	キットB	キットC	キットE	キットG	キットH	キットI	Mean	SD	CV
系列3を補正	実検体1	22.3	46.7	-	15.3	33.9	19.8	20.9	27.3	12.8	47%
	実検体2	123.1	145.9	141.8	128.1	169.1	95.5	102.4	130.5	27.8	21%
	実検体3	429.2	474.8	483.2	454.7	523.5	432.4	412.9	463.6	39.3	8%
	実検体4	831.5	991.2	1028.0	952.4	1050.4	910.1	856.3	964.7	73.4	8%
系列4を補正	実検体1	22.3	42.1	-	14.2	30.1	18.8	19.5	24.9	11.2	45%
	実検体2	123.1	131.7	124.7	118.6	149.9	90.7	95.3	118.5	22.4	19%
	実検体3	429.2	428.5	424.9	421.0	464.0	410.6	384.2	422.2	26.0	6%
	実検体4	831.5	894.5	903.9	881.9	931.0	864.0	796.9	878.7	45.9	5%

表．４　IRMM の回収率　[単位：%]

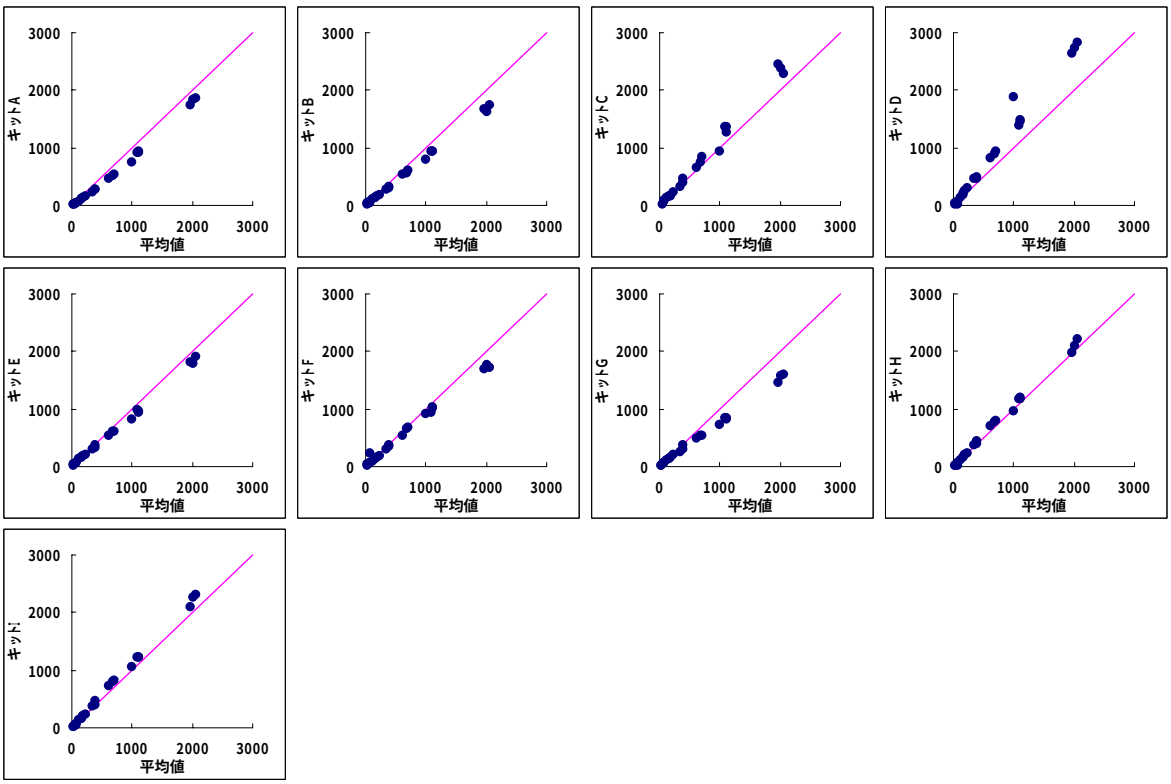
		IRMM	表示値	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	キットG	キットH	キットI
表示値に対する回収率	メーカー報告値	BCR576	31.1pg/mL	114%	138%	112%	126%	142%	94%	291%	130%	135%
		BCR577	188pg/mL	78%	86%	76%	95%	99%	86%	117%	99%	105%
		BCR578	365pg/mL	61%	82%	64%	91%	92%	96%	72%	111%	118%
	濃度換算値	BCR576	31.1pg/mL	198%	120%	396%	160%	102%	39%	326%	36%	0%
		BCR577	188pg/mL	109%	81%	111%	92%	80%	77%	135%	66%	68%
		BCR578	365pg/mL	82%	77%	77%	78%	78%	85%	83%	72%	76%

		IRMM	平均値	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	キットG	キットH	キットI
メーカー報告の平均値に対する回収率	メーカー報告値	BCR576	44.3pg/mL	80%	97%	78%	89%	100%	66%	205%	91%	95%
		BCR577	176pg/mL	83%	92%	82%	102%	105%	91%	125%	105%	112%
		BCR578	320pg/mL	70%	94%	73%	104%	105%	109%	82%	127%	135%
	濃度換算値	BCR576	44.3pg/mL	139%	84%	278%	112%	72%	27%	229%	25%	0%
		BCR577	176pg/mL	117%	87%	118%	98%	85%	82%	144%	71%	73%
		BCR578	320pg/mL	93%	87%	88%	89%	88%	97%	95%	82%	86%

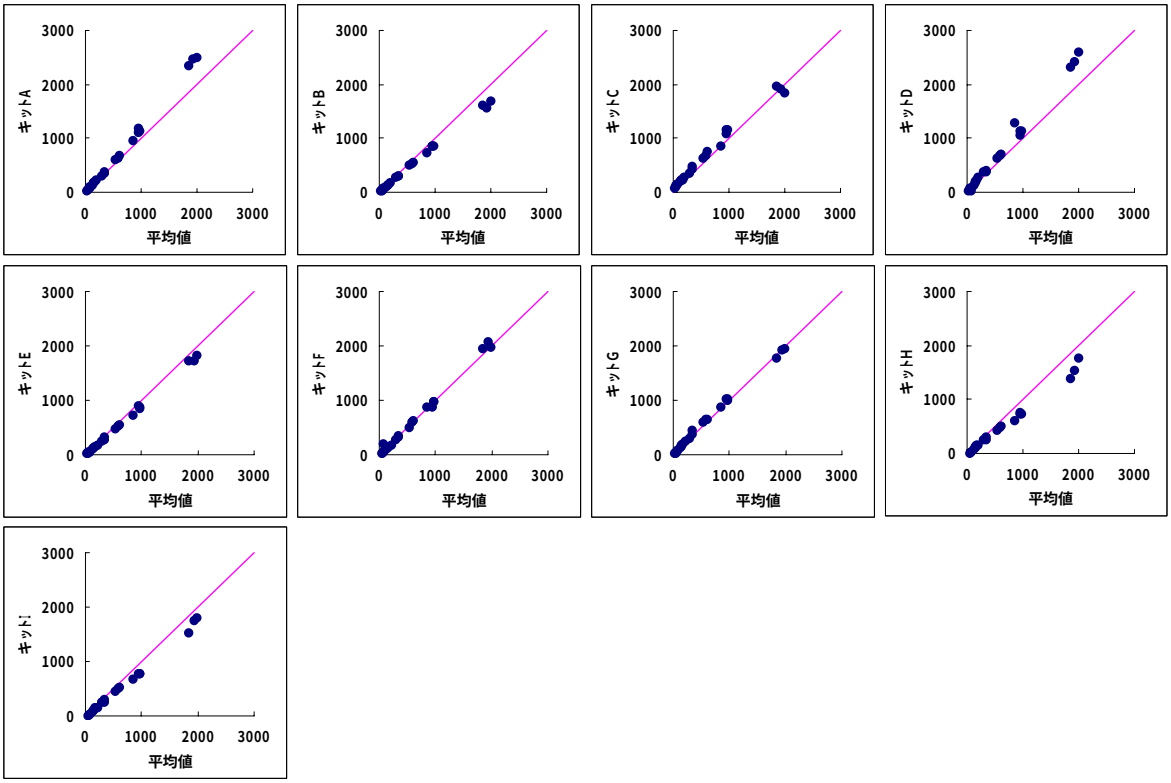
図．１IRMM の表示値に対する回収率



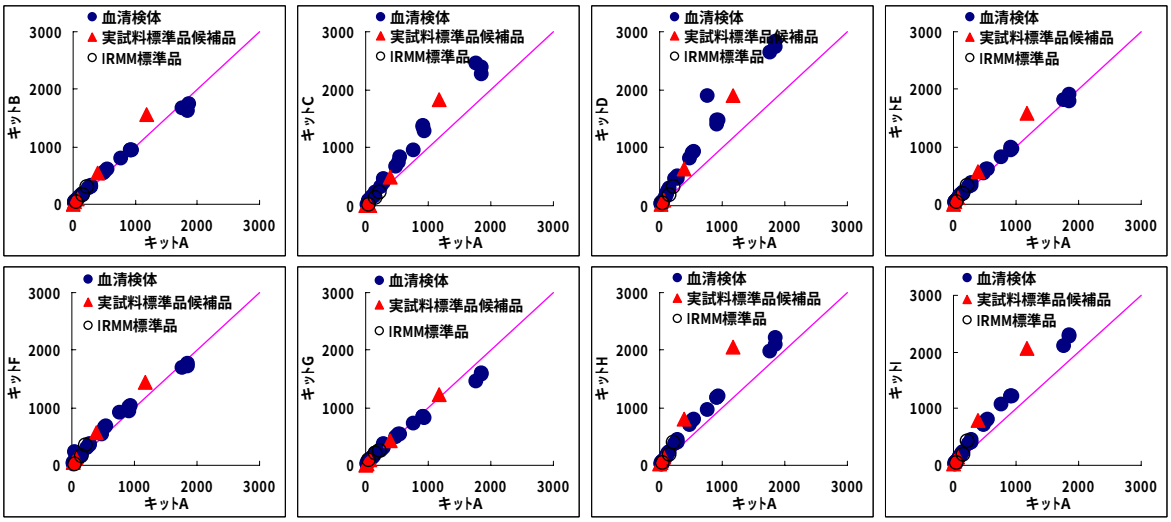
図．２　各キット付属のキャリブレーターを使用した場合の相関性



図．３　実試料系標準物質候補品をキャリブレーターとして使用した場合の相関性



図．４　反応性評価



表．５　各キット付属のキャリブレーターを使用した場合の相関性

（上段：傾き、中段：Y切片、下段：相関係数）

		Y									
		平均値	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	キットG	キットH	キットI
X	平均値		0.903	0.834	1.172	1.390	0.903	0.861	0.758	1.051	1.112
			-42.24	9.75	79.63	-11.44	3.05	32.00	21.70	8.51	1.89
			0.998	0.999	0.996	0.992	0.999	0.997	0.999	0.998	0.999
	キットA	1.102		0.919	1.286	1.527	0.998	0.947	0.837	1.158	1.225
		49.21		50.84	140.17	59.90	46.45	75.16	58.59	60.96	56.97
		0.998		0.997	0.995	0.986	0.999	0.993	0.998	0.995	0.997
	キットB	1.198	1.081		1.407	1.662	1.083	1.030	0.907	1.260	1.331
		-10.97	-52.10		65.07	-25.40	23.04	23.04	13.62	-3.34	-10.17
		0.999	0.997		0.996	0.990	0.996	0.996	0.998	0.998	0.999
	キットC	0.833	0.760	0.694		1.144	0.754	0.722	0.629	0.869	0.921
		-51.65	-95.07	-33.09		-72.61	-44.94	-16.43	-15.97	-40.85	-52.11
		0.996	0.995	0.996		0.978	0.995	0.994	0.994	0.993	0.994
	キットD	0.707	0.637	0.589	0.822		0.637	0.609	0.535	0.742	0.785
		18.07	-23.91	25.56	106.91		21.16	47.26	36.51	29.38	22.83
		0.992	0.986	0.990	0.978		0.987	0.989	0.988	0.987	0.990
	キットE	1.104	0.999	0.922	1.294	1.530		0.949	0.838	1.161	1.227
		-1.84	-45.05	7.80	77.60	-11.17		31.42	20.09	6.50	-0.04
		0.999	0.999	0.999	0.995	0.987		0.994	0.998	0.997	0.998
	キットF	1.155	1.041	0.963	1.351	1.607	1.042		0.875	1.214	1.284
		-33.48	-71.51	-17.69	42.10	-58.50	-26.09		-3.10	-26.22	-35.07
		0.997	0.993	0.996	0.994	0.989	0.994		0.995	0.995	0.996
	キットG	1.316	1.189	1.097	1.545	1.825	1.189	1.131		1.385	1.464
		-27.05	-67.25	-12.55	46.38	-46.88	-21.66	9.37		-20.53	-28.63
		0.999	0.998	0.998	0.994	0.988	0.998	0.995		0.998	0.999
	キットH	0.948	0.855	0.791	1.115	1.314	0.856	0.815	0.719		1.056
		-6.03	-47.024	4.474	69.655	-17.258	-2.463	27.174	16.714		-6.06
		0.998	0.995	0.998	0.993	0.987	0.997	0.995	0.998		0.999
	キットI	0.898	0.811	0.749	1.055	1.247	0.811	0.773	0.682	0.946	
		-0.88	-42.71	9.12	77.25	-11.58	2.35	31.43	20.74	6.42	
		0.999	0.997	0.999	0.994	0.990	0.998	0.996	0.999	0.999	

表．６　実試料系標準物質候補品をキャリブレーターとして使用した場合の相関性

（上段：傾き、中段：Y切片、下段：相関係数）

		Y									
		平均値	キットA	キットB	キットC	キットD	キットE	キットF	キットG	キットH	キットI
X	平均値		1.268	0.852	0.978	1.272	0.920	1.035	0.984	0.805	0.872
			-42.21	11.62	85.48	-20.26	-13.13	5.55	29.18	49.62	40.27
			0.999	0.999	0.992	0.996	0.999	0.997	0.998	0.996	0.998
	キットA	0.787		0.669	0.768	1.001	0.724	0.815	0.773	0.631	0.684
		34.58		41.85	120.61	23.75	18.68	41.34	64.22	79.15	71.84
		0.999		0.996	0.989	0.995	0.998	0.998	0.995	0.995	0.998
	キットB	1.171	1.481		1.150	1.488	1.078	1.211	1.154	0.945	1.023
		-11.97	-56.12		71.27	-34.63	-24.69	-6.66	16.77	38.61	28.98
		0.999	0.996		0.995	0.994	0.999	0.994	0.998	0.993	0.994
	キットC	1.007	1.273	0.861		1.273	0.927	1.042	0.995	0.816	0.886
		-77.65	-138.58	-56.94		-114.24	-85.13	-74.84	-49.69	-16.53	-32.03
		0.992	0.989	0.995		0.983	0.993	0.987	0.995	0.983	0.986
	キットD	0.780	0.989	0.664	0.759		0.717	0.807	0.767	0.628	0.681
		19.82	-17.07	29.05	108.00		5.53	26.56	49.60	65.65	57.29
		0.996	0.995	0.994	0.983		0.995	0.994	0.993	0.992	0.995
	キットE	1.085	1.376	0.925	1.063	1.380		1.123	1.068	0.873	0.946
		14.89	-23.34	23.82	99.55	-0.73		21.39	44.16	61.69	53.71
		0.999	0.998	0.999	0.993	0.995		0.996	0.997	0.995	0.997
	キットF	0.960	1.220	0.815	0.934	1.222	0.883		0.941	0.772	0.839
		-1.70	-46.47	11.84	86.95	-22.89	-14.39		29.61	48.54	37.90
		0.997	0.998	0.994	0.987	0.994	0.996		0.994	0.992	0.997
	キットG	1.012	1.281	0.863	0.994	1.286	0.931	1.048		0.819	0.887
		-27.59	-75.75	-12.44	56.27	-54.09	-38.19	-23.35		25.02	13.87
		0.998	0.995	0.998	0.995	0.993	0.997	0.994		0.994	0.996
	キットH	1.216	1.549	1.028	1.162	1.545	1.119	1.269	1.188		1.080
		-48.18	-107.65	-25.78	51.73	-80.77	-57.53	-49.67	-13.86		-11.46
		0.996	0.995	0.993	0.983	0.992	0.995	0.992	0.994		0.998
	キットI	1.126	1.437	0.951	1.078	1.432	1.035	1.178	1.100	0.923	
		-35.52	-92.25	-14.43	63.24	-65.25	-45.47	-37.98	-1.19	12.27	
		0.998	0.998	0.994	0.986	0.995	0.997	0.997	0.996	0.998	

２－４－２－９　黄体ホルモン（プロゲステロン）

要旨

1）プロゲステロンについて、「市販キットのデータの標準化について検証を行う」ことを目的とした調査研究を実施した。

2）市販されている各キットに用いられるキャリブレーターの値付け方法を確認したところ、ID-GC/MS 法検定により検量されたものの他、（財）日本公定書協会標準品、米国薬局方標準品に準拠しているもの等、その方法は多岐にわたっていた。

3）本年度は市販キットの測定値互換性について文献調査による収束性の検討を行った。方法は、各社の相関性検討結果における回帰式を用いた検討と併せて、「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」の結果を基に、各キット間の測定値間差を検討した。

4）WG 参加各社へアンケートを実施し、得られた各社キット間の相関性検討結果から、キャリブレーターの値付け物質及び検量方法は多岐にわたっているものの、患者検体を用いた測定値は概ね収束性を示していることが確認された。また、各キット間の相関係数も多くで r=0.95 以上を示していることが確認された。

5）「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」において、低濃度試料（A-1）では各キットの測定値にばらつきが認められるが、これは各キットの持つ感度の影響が指摘されており今後の課題とされている。しかしながら、高濃度試料（A-2）では各キット間の測定値は満足のいく収束性を示していることが確認された。

6）今後、各キットにおけるトレーサビリティ体系を共通にすることでさらなる収束性の改善が期待された。

１．目的

現状把握のための調査として、本調査研究項目群、C5-WG（プロラクチン、E2、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）の内、プロゲステロンについて「市販キットにおけるデータの標準化についての検証」を目的とした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学
アドバイザー	桑克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 （兼）PRL 本試験計画	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協）	大和隆	協和メデックス株式会社

	氏名	所属
（兼）副責任者		
実行計画担当者 (PRL, LH, FSH)	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 (E2, プロゲステロン, テストステロン) （兼）E2 本試験計画	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者(プロラクチン)	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者（E2）	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者（LH）	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者（FSH）	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 (プロゲステロン)	松本幹雄	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者（テストステロン）	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　（臨床検査薬協会会議室）
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　（臨床検査薬協会会議室）
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　（臨床検査薬協会会議室）
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　（臨床検査薬協会会議室）
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　（臨床検査薬協会会議室）
第９回会合：2007/02/20（火）13：30～16：30　（臨床検査薬協会会議室

４．調査研究の概要

WG 参加各社にアンケートを実施し､キットの基本性能及び他キットとの相関性を確認した。重ねて､「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を調査し、各社キット間の測定値の互換性を確認した。

４－１　測定値の互換性の現状

キット製造各社へキット名、検体種、測定原理、単位、測定範囲、抗体種、反応系に影響する物質、校正用標準品情報、検体量などの基本性能とともに、各社キットと他キットとの相関データ（文献、各社社内データ）についてアンケート調査を行った。

１）患者血清を用いた相関性データ（アンケート調査報告）

患者血清を用いた検討における各キット間の相関性を確認したところ、12 相関データ中 8 データでは傾きが±10%以内に収まっている上､相関係数も r ＝0.95 以上と良好な収束性を示していたが､他 4 相関データ中 3 データでは傾きで 20%以上の差を示しており、同一測定値として取り扱うことは出来ないことが確認された。また、残りの 1 データに関しては傾き 0.84、相関係数 r ＝0.939 と若干の測定値間差が見受けられた。

今回の調査によって得た 12 相関データの内、11 データでは相関係数が r =0.95 以上であることを鑑みると、統一した標準物資にて校正することにより、各キット間の互換性はさらに向上する可能性が認められた。

X軸	Y軸	相関係数（ｒ）	傾き	切片	n 数	測定範囲（ng/mL）
G	B	0.982	1.21	0.66	141	0-30
G	D	0.984	0.98	0.30	58	0-40
G	E	0.989	0.94	0.12	60	0.25-40
G	F	0.980	1.08	0.47	69	0-20
G	I	0.975	0.96	0.55	98	0-20
G	J	0.986	0.79	0.24	182	0-40
G	K	0.988	1.01	-0.41	373	0-40
H	B	0.975	1.38	-0.12	50	0-30
H	G	0.993	1.05	0.13	340	0-18
J	I	0.988	1.05	0.14	188	0-20
K	G	0.953	1.03	0.11	24	0-20
M	A	0.939	0.84	0.60	43	0-30

2）イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ

「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」で報告された 11 キットについてそれぞれの報告値を比較した。

参加 11 キットの平均値に対する各キット測定値比率を算出したところ、低濃度試料（A-1）では 11 キット中 4 キットが全 11 キット平均値に対して±20%以上の乖離を示しているものの、高濃度試料（A-2）では±20%を超えたものは 1 キットのみで、他の 10 キットでは概ね良好な収束性を示している。低濃度試料の乖離が大きい原因としては、サーベイ報告書にも記されている通り、測定感度などのキット特有な問題が残っているが、 サーベイ用試料には保存剤等の添加もあるためマトリックスの影響も念頭に置く必要も残る。しかしながら、当報告結果において、高濃度試料（A-2）では概ね各キット間における測定値は収束していることが確認された。

キット名	測定試料 A-1	測定試料 A-2	全 11 キット平均値/ 各キット測定値 （A-1）	全 11 キット平均値/ 各キット測定値 （A-2）
a	1.49	18.39	140.2%	97.3%
b	0.6	18.13	56.5%	95.9%
c	1.11	17.39	104.4%	92.0%
d	0.83	19.99	78.1%	105.8%
e	1.17	19.45	110.1%	102.9%
f	1.21	23.33	113.9%	123.4%
g	0.89	15.27	83.7%	80.8%
h	0.99	18.87	93.2%	99.8%
i	1.35	16.75	127.0%	88.6%
j	1.12	20.48	105.4%	108.4%
k	0.93	19.85	87.5%	105.0%
全 11 キット平均値	1.06	18.90		

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

現在、プロゲステロン各キットにおけるキャリブレーターの値付けに関しては統一されておらず、キットごとに異なった分析法または公的標準物質を基に値付けが行われていることが確認された。

キャリブレータの 値付け方法・基準物質	件数	キット
ID-GC/MS	3	A C K
(財) 日本公定書協会標準品	1	E
米国薬局方標準品（USP）	5	F G H I J
IRMM:ERM-DA347	1	D
純物質の重量添加	1	B

４－３　キット間差の要因について

先にも述べたが、各キットの値付けにおける基準物質、検量方法には統一された見解がなく、各社独自の値付けが行われている。しかしながら、今回の調査においては、各キットの測定値は収束性を示しており、統一した標準品の基にトレーサビリティ体系を取ることで、より各キット間の互換性は高まるものと考えられた。

４－４　標準化に向けた実行計画

評価用実検体と評価用標準品を各社のキットで測定し、データ解析し標準品作成のための検討をする。

１）公的標準品または純物質の入手

純度、安定供給などを考慮して純物質を選定する。

・日本公定書協会標準品

・IRMM：ERM‐DA347

２）評価用標準品の準備

純物質を緩衝液及びヒト血清に添加した評価用標準品を調整する。

・調製濃度（理論値）：０、１、5、15、30ng/mL

・IRMM は添付文書に従い調整する。

３）評価用実検体の準備

実検体を入手し、濃度ごとにプールして、30 例を調整する。

・0.25‐10ng/mL　　：10 検体

・10‐20ng/mL　　：10 検体

・20‐30ng/mL　　：10 検体

不妊治療やホルモン補充療法（HRT）検体は除外

属性別にプール：　①男性

②女性（思春期前）

③女性（成人、閉経前）

④女性（50 歳以上あるいは閉経後）

⑤女性（妊婦）

4）プレテストの実施

小規模な前評価を実施し、検討条件の絞込みを行なう。

5）各社キットでの測定

参加メーカーによる評価サンプルを測定する。

6）結果集計

各社の評価サンプルの測定値を用いて各社の相関データを作成し、データの解析を行う。

7．今後の課題

今後、共通の標準品を設定し、それを基にしたトレーサビリティ体系を組むことで測定値の互換性が向上するかの確認試験を行うことが有効であると考える。
しかしながら、その設定濃度やマトリックスの影響などによる乖離の可能性も十分視野に入れ、検討を行う必要がある。

8．結び

平成 18 年度の調査研究において市販キットの互換性を確認した。プロゲステロンは、これまでの文献調査結果から実試料標準物質候補品作成の有効性が高い項目であると考えられた。

２－４－２－１０　テストステロン

要旨

１）テストステロンについて、「市販キットにおけるデータの標準化の検証」を目的とした文献調査研究を実施した。

２）市販されている各キットに用いられるキャリブレーターの値付け方法を確認したところ、ID-GC/MS 法検定により検量されたものの他、日本薬局方標準品、米国薬局方標準品（USP）に準拠しているもの等、その方法は多岐にわたっていた。

３）文献調査研究の方法は、各社の相関性検討結果および「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」の結果を元に、各キット間の測定値間差を検討した。

４）各社の相関性検討結果から、各キット間の相関係数は r=0.95 以上を示しており、回帰式の傾きは+15%から - 8%の間であった。

５）「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」の結果から、一番高い測定値と一番低い測定値の比が 1.9 倍であった。各社相関性の検討には患者試料が使用されているが、イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイの場合にはコントロール血清が使用されているため、含有する防腐剤や安定化剤、その他のマトリックスの影響により、キット間差が大きくなっていることが示唆された。

６）今後、各キットにおけるトレーサビリティ体系を共通にすることでキット間差の改善が期待される。

１．目的

現状把握のための調査として、本調査研究項目群、C5-WG（プロラクチン、E2、LH、FSH、プロゲステロン、テストステロン）の内、テストステロンについて「市販キットにおけるデータの標準化の検証」を目的とした。

２．委員会の構成

	氏名	所属
アドバイザー	家入蒼生夫	獨協医科大学
アドバイザー	小田桐恵美	東京女子医科大学
アドバイザー	桑克彦	筑波大学
アドバイザー	森下芳孝	三重大学
責任者 （兼）PRL 本試験計画	塚本久雄	東ソー株式会社
運営管理者（臨薬協） （兼）副責任者	大和隆	協和メデックス株式会社

	氏名	所属
実行計画担当者 (PRL, LH, FSH)	三好欣也	株式会社三菱化学ヤトロン
実行計画担当者 (E2, プロゲステロン, テストステロン) (兼) E2 本試験計画	西山寿子	あすか製薬株式会社
実験項目担当者(プロラクチン)	中城周二	富士レビオ株式会社
実験項目担当者 (E2)	上野貴久	日水製薬株式会社
調査項目担当者 (LH)	古澤幸弘	オリンパス株式会社
調査項目担当者 (FSH)	前田英征	株式会社テイエフビー
調査項目担当者 (プロゲステロン)	松本幹雄	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
調査項目担当者 (テストステロン)	齋藤憲祐	デイド　ベーリング株式会社
技術担当者	赤野恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	伊東立雄	オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	伊東理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	誉田大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	吉田雅之	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/15（火）14：00～16：15　(臨床検査薬協会会議室)
第２回会合：2005/12/02（金）10：00～12：30　(臨床検査薬協会会議室)
第３回会合：2006/01/12（木）13：00～17：30　(臨床検査薬協会会議室)
第４回会合：2006/02/14（火）13：30～17：00　(臨床検査薬協会会議室)
第５回会合：2006/03/23（木）13：30～17：30　(臨床検査薬協会会議室)
第６回会合：2006/04/25（火）13：30～17：30　(臨床検査薬協会会議室)
第７回会合：2006/09/25（月）14：00～18：00　(臨床検査薬協会会議室)
第８回会合：2007/01/16（火）14：00～17：30　(臨床検査薬協会会議室)
第９回会合：2007/02/20（火）13：30～16：30　(臨床検査薬協会会議室)

４．調査研究の概要

WG 参加各社にアンケートを実施し、キットの基本性能及び他キットとの相関性を確認した。重ねて、「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」を調

査し、各社キット間の測定値を比較検討した。

４－１　標準化の現状

キット製造各社へキット名、検体種、測定原理、単位、測定範囲、抗体種、反応系に影響する物質、校正用標準品情報、検体量などとともに、各社キットと他法との相関データ（投稿文献、各社社内データ）についてアンケート調査を行った。

２）患者血清を用いた相関性データ（アンケート調査報告）

患者血清を用いた検討における各キット間の相関性を確認したところ、7 相関データ中 6 データでは傾きが±10%以内で、相関係数も 0.95 以上であった。また、残りの 1 データに関しては傾き 1.145 と若干の測定値間差が観察された。

共通の標準品が使用されていないにも関わらず±10%以内のキット間差が観察されたことから、統一した標準物質にて校正することにより、各キット間の互換性はさらに向上する可能性が示唆された。

対照試薬名 (X)	各社試薬名 (Y)	相関式				
		n数	回帰式	相関係数	検体の濃度範囲	単位
A	D	319	y＝1.100x+9.232	0.979	5.0-922	ng/mL
A	E	138	y＝0.92x-64.9	0.96	0-2500	ng/dL
A	F	64	y＝0.979x+0.082	0.983	0.15～16	ng/mL
A	G	136	y＝1.145x+3.18	0.951	0-1000	ng/dL
B	G	135	y＝1.0008x	0.968	0-800	ng/dL
C	A	55	y＝1.08x-0.07	0.977	0-1200	ng/dL
A	B	197	y＝1.00x+13.3	0.976	0-1200	ng/dL

＊キットによって単位が異なるので注意

２）イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ

「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」で報告された 7 キットについてそれぞれの報告値を比較した。

試料１および試料２ともに、最大値と最小値の比が約 1.9 倍を示した。

イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイの場合には、コントロール血清が使用されているため、含有する防腐剤や安定化剤等のマトリックスの影響により、キット間差が大きくなっていることを考慮する必要がある。

キット	試料 A-1 平均値	試料 A-2 平均値	各社キット/平均値 (A-1)	各社キット/平均値 (A-2)
a	1.08	7.50	106%	96%
b	1.00	5.35	98%	69%
c	0.95	8.68	93%	112%
d	1.36	10.36	134%	133%
e	0.88	6.67	86%	86%
f	0.73	8.59	72%	110%
g	1.13	7.32	111%	94%
平均値	1.02	7.78		

（「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」を改変し作表）

４－２　キャリブレーターの値付け方法・基準物質

現在、テストステロン各キットにおけるキャリブレーターの値付けに関しては統一した見解はなく、キットごとに異なった分析法または高度精製標準物質を基に値付けが行われていることが確認された。

会社名	ﾃｽﾄｽﾃﾛﾝ
A	ID-GC/MS
B	ID-GC/MS
C	純物質重量添加
D	自家標準品(HPLC 検定)
E	ID-GC/MS
F	ID-GC/MS
G	純物質重量添加 (吸光度検定)
H	USP
I	USP
J	ID-GC/MS

４－３　キット間差の要因について

国際標準品が存在しない事から、各社各様のトレーサビリティ体系を持っているにも関わらず、各社キット間の測定値は±10%以内と良好な収束性を示していた。国際標準品が設定され各社共通のトレーサビリティ体系が確立されれば、各キット間の差は更に小さくなると思われる。

４－４　標準化に向けた実行計画

評価用実検体と評価用標準品を各社のキットで測定し、データ解析し標準品作成のための検討をする。

１）公的標準品または純物質の入手

WHO にはテストステロンの国際標準品が設定されていないが、純物質の入手は可能性である。純度および安定供給などを考慮して選択する必要がある。

・米国薬局方標準品（テストステロン CIII(USP)）

２）標準測定法の設定

ID-LC/MS 法

３）評価用標準品の準備

純物質を緩衝液及びヒト血清に添加した評価用標準品を調整する。

調製濃度（理論値）：0、１、2.5、5、10ng/mL

緩衝液の組成：　　50mM トリス塩酸緩衝液、1% BSA、pH7.5

４）評価用実検体の準備

実検体を入手し、濃度ごとにプールして、30 例を調整する。

・0.2 - 3ng/mL　　：5 検体

・3 - 7ng/mL　：15 検体

・7 - 10ng/mL　　：10 検体

※前立腺癌、ホルモン療法の症例は除外

※以下の属性別に検体をプールする

①男性(思春期前)

②男性(50 歳未満)

③男性(50 歳以上)

④女性

５）プレテストの実施

小規模な前評価を実施し、検討条件の絞込みを行なう。

６）各社キットでの測定

参加メーカーによる評価サンプルを測定する。

７）結果集計

各社の評価サンプルの測定値を用い各社の相関データを作成し、データの解析を行う。

５．今後の課題

今後、共通の標準品を設定し、それを基にしたトレーサビリティ体系を組むことで測定値の互換性が向上するかの確認試験を行うことが有効であると考える。
しかしながら、その設定濃度やマトリックスの影響などによる乖離の可能性も十分視野に入れ、検討を行う必要がある。

６．結び

平成 18 年度の文献調査研究によって市販キットのデータ収束性を検証した。これまでの結果を基に各社共通のトレーサビリティ体系の確立が試薬間差是正に効果があると思われた。

２－４－２－１１　甲状腺刺激ホルモン(TSH)

要旨

１）TSH の公的標準物質は WHO 標準品が市販されているが、この標準物質は下垂体由来の精製品であり、材料の継続性、免疫反応におけるロット差や希釈液のベース物質（血清、緩衝液、等）よる反応性差などが課題として挙げられる。

２）11 社 12 試薬を用いた TSH 測定値の実態調査では、各社試薬による測定値の全社平均に対する比率は 86～125%の範囲内で変動係数（CV）は 11.3%であり、比較的収束している実態が明確となった。しかし、最小の測定結果を示した試薬と最大の測定結果を示した試薬の比は 1.5 倍程度あり、さらなる収束が必要と考えられた。

３）標準化の方法として、8 種類の評価用標準品を調製し、これらを標準物質とし、各社試薬での補正する方法を試みたが、どの評価用標準物質においても試薬間差が広がり、収束させるものは無かった。また、血清と緩衝液のベースによる差は認められたものの、4 種類の TSH 抗原による差は認められなかった。

今回の結果より、これらの評価用標準物質を用いて標準化する方法は困難と考えられた。

４）TSH の標準化の方法としては「NIBSC 3rd IS(81/565)」を用いて値付された実検体を基準として各試薬のキャリブレーターへ値付けする方法が適切ではないかと考えられた。今後は、この方法について検証を進めることが有用と考える。

１．目的

調査研究項目群、C6（TSH、T3、FT3、T4、FT4、サイログロブリン）うちの TSH（甲状腺刺激ホルモン）について、「各社測定試薬間の関係を把握すること及び校正用標準品の候補品を調製し、各社試薬の測定値の収束性について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

・アドバイザー	家入　蒼生夫（獨協医科大学臨床医学科臨床検査医学）
	小田桐　恵美（東京女子医科大学大学院医学研究科中央検査部）
	桑　克彦（筑波大学大学院人間総合科学研究科）
	森下　芳孝（三重大学医学部附属病院検査部）
・WGC6 責任者	下川　洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・運営管理者	吉田　雅之（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・TSH 実行計画担当	塚本　久雄（東ソー株式会社）
・TSH データ解析担当	御子柴　浩（オリンパス株式会社）
・TSH 報告書担当	上野　哲男（シスメックス株式会社）

・協力メーカー技術担当者（名簿順）

会社名	技術担当者		TSH該当メーカー
	（正）	（副）	
ベックマン・コールター（株）	月本あつ子		○
（株）コスミック コーポレーション	菊地 強		---
デイド ベーリング（株）	斉藤 憲祐		---
栄研化学（株）	阪崎伸一郎	小林 隆	○
富士レビオ（株）	村上 弘		○
（株）三菱化学ヤトロン	山岸 俊哉		○
日本ビオメリュー（株）	赤野 恭子		○
オリンパス（株）	御子柴 浩		○
ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	滝本 徹男		○
ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	下川 洋太郎	吉田 雅之	○
三洋化成工業（株）	誉田 大仁		---
シスメックス（株）	上野 哲男		○
東ソー（株）	塚本 久雄		○
和光純薬工業（株）	山本 幸子		○
ヤマサ醤油（株）	作田 俊隆	岩朝 勝啓	---

3．委員会の開催

第１回会合：2005/11/8（火）13：00～17：30　（臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/5（月）13：00～17：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/1/23（月）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/8/21（月）15：00～17：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/12/27（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第６回会合：2007/2/14（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）

4．調査研究の概要

4－1　測定値の互換性の現状

1）現状の調査

①市販されている標準物質

TSH の公的標準物質は WHO 標準品が市販されている。従来は「NIBSC 2nd IRP(80/558)」が使用されていたが、現在、入手することは困難で新たに「NIBSC 3rd IS(81/565)」が使用されている。この標準物質は、下垂体由来の精製品であり、材料の継続性、免疫反応におけるロット差や希釈液のベース物質（血清、緩衝液、等）よる試薬間の反応性差などが課題として挙げられる。

また、最近リコンビナントｈTSH を用いて調製された「NIBSC 1st RR(94/674)」が市販されたが各社での使用実績はない。

なお、TSH 測定に使用する実用標準品及び常用標準品はない。

②TSH 測定の実態調査

委員会での各参加企業の意見では、TSH の測定値はメーカー差が少なく、±10%内にほとんどの値が入るのではないかとの印象であった。但し、現実に同一の条件及び同一の実検体群を比較した成績はなく、実態を示す資料はないことが判った。

２）現状把握の為の実験

各社試薬による TSH 測定の実態を調査するため、実検体を用いた調査実験を実施した。また、各種の評価用標準品を用いた標準化の可能性に関する調査実験を同時に実施した（資料１）。

この調査実験は、TSH の濃度域を 5 レベルに分け、各レベルで 5 例（レベル 4 のみ 10 例）の計 30 例の血清試料を各社の試薬で測定し、その結果の比較より各試薬間の測定値差の実態を調査するものである。また、4 種類の TSH 抗原（NIBSC 3rd IS(81/565)、NIBSC 1st RR(94/674)、Fitzgerald 社のリコンビナント hTSH、CALBIOCHEM 社のヒト下垂体由来精製 TSH）を用いて 2 種類のベース（ウマ血清、緩衝液）で調製した 8 種類の評価用標準品を同時に測定し、これらの評価用標準品で補正する方法で測定値の収束化が図れるかどうか評価するものである。

３）実験結果

２）の調査実験は 11 社 12 試薬の参加で実施された（資料２）。

この結果の評価を行うにあたっては、以下の手順により各試薬の測定値の全社平均に対する比率（%）（以下、測定値比率（%））を求めた。

①各試薬の実検体の測定結果について、最初に「E 試薬」に対する相関性より測定値に良好な相関関係が成り立っているかどうか調べた。結果は、各社試薬に対する相関係数の二乗（r^2）が 0.9852 以上と各試薬とも良好な相関性が認められた。

②次に、実検体毎に測定値の平均値を求め、これを基準として各試薬との相関性を求めた（資料３）。各試薬との相関性は相関係数の二乗（r^2）が 0.9845 以上と各試薬とも良好であった。

③この時の傾きに 100 を乗じた値を測定値比率（%）として扱う予定であったが、全社平均値に対する各試薬測定値のバイアスを調べたところ TSH 低値域及び TSH 高値域で変動を示した試薬が認められた（資料４）ため、変動が少なく、基準値付近となる TSH 中間値域（0.5～10μIU/mL）の各試料の全社平均値に対する比率の平均値を用いることとした（資料５）。

上記により求めた測定値比率（%）は 86～125%の範囲内であり、その変動係数（CV）は 11.3%であった。この結果は、先の実態調査で示した印象と近いものであった。

次に 8 種類の評価用標準品を評価したところ希釈値に対する相関係数の二乗（r^2）が 0.9921 以上と各社試薬とも良好な希釈直線性を示した。この結果より各評価用試料の理論値に対する傾きを用いて各社試薬の評価用標準品に対する補正が可能と判断した。

このことより、各社試薬の測定値比率（%）を評価用標準品の理論値に対する傾きで割り算することにより、各評価用標準品の理論値への補正を行った（資料６）。補正により得られた測定値

比率（%）の各社試薬間の収束性を調べた結果、CV は各評価用標準品に対して 14.8～25.4%と補正前の 11.3%に比べ、すべて大きく、補正により試薬間差が広がる結果となった。

ベースの種類では、緩衝液を用いた方が CV 14.8～16.9%と馬血清を用いた場合の CV 19.5～25.4%に比べ、収束している傾向が見られた。一方、補正後の平均値は、ウマ血清を用いた場合の方が 0.89～1.32（CALBIOCHEM 社の下垂体由来抗原を除くと 0.89～0.98）と緩衝液を用いた場合の 0.74～1.17（同 0.74～0.87）に比べ 1（現在、市場で使用されている値の平均値）に近い値を示した。ただし、各評価用標準品の理論値は、それぞれ異なる方法で値付けされており、特に NIBSC 品以外の抗原は、特定の市販キットで値付けされているなど、理論値に偏りがある可能性が高く、補正後の値が平均値に近いことが必ずしも適切とは限らないことに留意する必要がある。

また、4 種類の抗原による差はほとんど認められなかった。

４）考察

各社試薬による TSH の測定結果は全社平均値に対し、86～125%の範囲内と比較的収束している実態が明確となった。

しかし、最小の測定結果を示した試薬と最大の測定結果を示した試薬の比は 1.5 倍程度あり、更なる収束が必要と考えられた。

標準化の方法として、8 種類の評価用標準品を調製し、各社試薬での補正を試みたが、どの評価用標準物質においても試薬間差が広がり、収束させるものは無かった。また、血清と緩衝液のベースによる差は認められたものの、4 種類の TSH 抗原による差は認められなかった。

従って、今回の結果より、標準物質を用いて標準化することは困難と考えられた。

一方、今回の結果より、実検体を基準として各社試薬の専用キャリブレーターの値付けをする方法が標準化に適しているのではないかと考えられた。

４－２　標準化および標準物質の設定経過

４－１の結果より､標準物質を設定して各社試薬における TSH 測定値の標準化は困難と考えられた。

４－３　標準物質の設定

実検体を基準として各社試薬で専用のキャリブレーターに値付けする方法により、標準化できる可能性が示唆された。

４－４　値付けの測定方法の選択

実検体への値付けとしては「NIBSC 3rd IS(81/565)」を用いて補正した時に標準的な値（全社平均値の 100±5%の範囲内の値）を示した数社の試薬による共同研究で「NIBSC 3rd IS(81/565)」から基準となる実検体に値付けする方法が望ましいと考える。

その際、NIBSC の標準物質を溶解するベースとしては、今回の共同実験で僅かに収束性が良好であった緩衝液が推奨できる。ただし、緩衝液においても収束性が十分とは言い難く、ヒト血清や

緩衝液中の BSA の添加量を変えるなど、他のベースについても追加検討して決定する事が望ましい。

また、基準となる実検体から各社試薬のキャリブレーターへの値付けは各社試薬を用いた方法で可能である。

今回の結果をもとに、この値付け方法での標準化の結果をシミュレートしたところ TSH 中間値域（0.5～10μIU/mL）の各検体の測定値は CV 4.2～7.6%の範囲内となり、各試薬の平均値を用いた測定値比率（%）は 95～104%の範囲内で CV 3.6%と収束する結果が得られた（資料７）。

５．今後の課題

TSH の実態調査実験より、実検体を基準として「NIBSC 3rd IS(81/565)」から各社試薬のキャリブレーターへの値付けの方法を示した。

今後は、この値付け方法の検証が必要である。また、「NIBSC 3rd IS(81/565)」から実検体への値付けに使用する試薬について、測定間再現性やロット間再現性の検討を行い、共同研究に適しているかどうかの検証が必要である。

また、この方法で値付した基準となる実検体を消尽したときにどのようにして値付するかといったルールを明確にしておく必要がある。これらの点については、今後の課題として検討を行う。

６．結び

平成 18 年度の調査研究において、TSH 測定値の実態が明確となった。また、標準物質を用いて各社試薬の測定値を標準化することは困難であることが判明した。一方、標準化に対しては、実検体を基準として使用する方法に可能性が認められた。今後は、今回の結果をもとに、標準化の実現について上記の方法の検証を行う必要があると考える。

今回の検討に使用しました試料の分析や提供および種々のご助言をいただきました伊藤病院診療技術部　宮崎直子様、吉村弘様に深謝いたします。

資料 1

JCCLS 標準化基本検討委員会　柱 1 WG　C6

TSH 実行計画書

（2006 年 7 月 18 日報告分より抜粋）

１．検討の進め方

標準化基本検討委員会　柱１で最初に作成された実行計画書案には、公的標準物質や純物質などの抗原を各社のキャリブレーターのベースに添加して校正用標準品を作成する方法、即ち抗原のみ共通化する方法が提案されていたが、特に外資系メーカーではこのような検討が困難であるため、添加抗原とベースを共通化した評価用標準品をいくつか作成して、各社キットで比較検討する方法を選択した。なお、このように共通化された評価用標準品の中から、標準化のための校正用標準品として適したものを見出すことができれば、トレーサビリティシステムにおける、実用標準品や常用標準品としても使用できる可能性もある。

また、各社のキャリブレーターを、各キットで互いに測定する方法については、キャリブレーターへの各種添加物が、他社キットの測定に影響を及ぼす可能性があることから、測定対象から除外することにした。

●作業手順の概要

①材料の選定	(1) 公的標準物質について調査し、検討に使用するものを選定する。 (2) 校正用標準品の材料としての抗原候補品を選定する。 (3)校正用標準品の材料としてのベース(血清または緩衝液)の候補を選定する。
②評価用標準品の調製	公的標準物質、及び、抗原候補品をベース候補に添加して、評価用標準品を調製する。
③実検体の収集	評価用標準品の有効性確認には、実検体との比較評価が不可欠である。
④各キットによる測定	評価用標準品と実検体を協力メーカーに配布し、各キットで測定する。
⑤データ解析	キット差の現状を確認する。 各キットの測定値を収束させるための校正用標準品として適切な材料の組合せについて考察する。

２．材料の選定

２－１．公的標準物質の選定

公的標準物質としては、NIBSC 2nd IRP（Code：80/558，1983）（ヒト下垂体由来）が確立され、現行キットの多くは、これを基準にキャリブレーターが値付けされている。しかし現在は、これを入手することは難しく、代わりとして NIBSC 3rd IS（Code：81/565，2003）（ヒ

ト下垂体由来）が入手可能となっている。

一方、リコンビナントTSHとして、NIBSC 1st RR（Code：94/674，1996）が確立されている。本品は、先の2nd　IRPに代わるものとしてではなく、キットの性能確認等に利用されているようである。しかし、これを標準物質として利用できれば、安定供給の観点から有用性が高いと考えられる。

以上のことを考慮して、本調査研究に用いる公的標準物質としては、NIBSC 3rd IS（81/565）とNIBSC 1st RR（94/674）の2種を選定した。

●公的標準物質

	①ヒト下垂体TSH	②リコンビナントｈTSH
コード番号	NIBSC 3rd IS（81/565）	NIBSC 1st RR（94/674）
容量	11.5mIU/本	6.7mIU/本

２－２．校正用標準品の材料としての抗原候補の選定

添加抗原についても、公的標準物質と同様に、ヒト下垂体由来品とリコンビナント品の比較検討が適切と考えられる。また、ヒト下垂体由来品は精製抗原であるため、製品によって性状が異なる可能性がある。そこで、複数のメーカーから精製抗原を入手して比較検討することが望ましいと考えられる。

以上のことを考慮して、ヒト下垂体由来の精製品（2種）、リコンビナント品（1種）を選定した。

●リコンビナントhTSH

メーカー	Fitzgerald
品番	30-AT09
グレード	９８%以上（SDS-PAGE）
Lot	A01091110 ４ＩＵ/mg
容量	100μｇ/vial

●精製TSH（ヒト下垂体由来）

メーカー	CALBIOCHEM	Aspen　Bio　Inc
品番	Cat#869006	190A
グレード	purity：＞95%, potency：＞6.0IU/mg	High　Purity　>95% 8.5IU/mg
容量	10μg @ 6IU/mg	1mg　　8.5IU/mg

２－３．校正用標準品の材料としてのベース候補の選定

抗原添加用のベースとしては、臨床検体に近い条件とすることに重点を置いた場合には、血清ベースが望ましい。一方、血清ではロットが代われば組成は異なるため、性状が変化する心配がある。血清ベースと緩衝液ベース間で性能に差がなければ、安定供給の観点から緩衝液ベースが望ましい。

以上のことを考慮して、血清ベースと緩衝液ベースの 2 種を比較検討することとした。

２－３－１．血清ベース

TSH は低濃度域が重要であるため、ベース血清中に TSH が存在することは適切ではない。ヒト血清から TSH を完全に除くことは困難であることから、血清ベースには動物血清を用いることとした。また、動物種は協力メーカーの中で使用経験のある馬血清を選定した。

●ウマ血清

動物種	ウマ血清
メーカー	Scantibodies Lab, Inc.
品番	3SE163
処理の必要性 ・ｐH 調整、加熱、その他	加熱（54℃　3ｈ） Tris（pH　7.5）

２－３－２．緩衝液ベース

緩衝液の組成は、各社の経験を参考に平均的な組成とした。なお、アンケートの結果、各キットの測定に影響する可能性のあるキレート剤、アジ化ナトリウム、界面活性剤、合成高分子は添加しないこととした。

●緩衝液（組成）　50mM トリス，1%BSA，ｐH7.5

	緩衝剤	BSA
仕様	50mM　Tris（ｐH7.5）	BSA（1%）
メーカー	Sigma	Sigma
品番	T1503	A7030

３．評価用標準品の作製

３－１．評価用標準品の種類と作製数量

上記の 5 種類の抗原（2 種の公的標準物質 + 3 種の抗原候補品）と 2 種類のベース（血清、緩衝液）の組合せで下表の 10 種類の評価用標準品を作製する。サンプルの作製は WG 協力メーカーに有償で委託する。

●種類と作製数量

評価用標準品	抗原	ベース	濃度ポイント 注1）	作製数量注2)
系列（1）	NIBSC（81/565）（下垂体由来）	血清	6	各 1ml x 24 本
系列（2）		緩衝液	6	各 1ml x 24 本
系列（3）	NIBSC（94/674）（ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ）	血清	6	各 1ml x 24 本
系列（4）		緩衝液	6	各 1ml x 24 本
系列（5）	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄh TSH（Fitzgerald）	血清	6	各 1ml x 24 本
系列（6）		緩衝液	6	各 1ml x 24 本
系列（7）	下垂体由来 TSH（CALBIOCHEM）	血清	6	各 1ml x 24 本
系列（8）		緩衝液	6	各 1ml x 24 本
系列（9）	下垂体由来 TSH（Aspen Bio）	血清	6	各 1ml x 24 本
系列（10）		緩衝液	6	各 1ml x 24 本
全サンプル本数			10 種類 x 6 濃度 x 24 本＝1440 本	

●抗原の添加濃度：6 濃度（0、0.5、5、10、40、80 μIU/ml）

（注１）濃度ポイント：評価用標準品の濃度は、各キットの測定範囲を参考に（0、0.5、5、10、40、80 μIU/ml）の 6 ポイントとした。各濃度に調製するための抗原の添加量は、各抗原の表示値を元に計算する。ただし、各抗原は由来や供給元が異なるため、それぞれの表示値には互換性が無い可能性が高いため、絶対的な濃度ではないことに留意しておく必要がある。

（注２）作製数量の根拠：14 メーカー（18 キット）分として算出。アンケートの結果、検体必要量は最大で 1 テスト 200μL、デッド 200μl として、1ml あれば、n=3 以上の測定が可能。再測定や追加検討も考慮して、1ml に小分け凍結したものを 1 本ずつ各メーカーに配布することとし、予備も含めて、1.3 倍の係数を掛けて各 24 本とした。ただし、複数キット（機種）を有するメーカーには機種数分を配布する。

３－２．標準品作製後の保存条件と安定性の確認

（１）保存条件

各標準品は作製後、1 ml に分注して-70 ℃以下で凍結保存する。

（配送する場合は、保冷剤としてドライアイスを使用する。）

（2）凍結融解の影響

凍結保存前のものと、凍結保存後に融解させたものでTSHを測定し、凍結融解の影響の有無を確認する。TSHの測定には協力メーカーのキットを用いる。

（3）融解後の安定性

室温（20～25℃）と冷蔵（4～8℃）の温度条件で、融解直後、1ｈ、2ｈ、4ｈ、8ｈ、24ｈ後にTSHを測定し安定性を確認する。

4．実検体の収集

評価用標準品の評価には、実検体を一緒に測定して、比較検討することが不可欠であり、以下の実検体の収集をJCCLSに委託する。

なお、本検討に用いるヒト検体は、「ＪＣＣＬＳ標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解（2006年1月10日）」に従って配布されたものを用いるものとする。

項目	濃度域	検体数（本）	検体量[注3)]	備考
TSH	0～0.5 μIU/ml	5	各24mL	・検体は血清であること。 ・容量が多いためプールすることもやむを得ない。 ・0.5～5 μIU/mlは治療中ではなく健常人（健診検体等）であることが望ましい。
	0.5～5 μIU/ml	5		
	5～10 μIU/ml	5		
	10～50 μIU/ml	10		
	50～100 μIU/ml	5		
	全30例			

（注3）検体量の算出根拠：1ｍｌ小分け凍結で各24本。14メーカー（18キット）分として算出。検体必要量は最大で1テスト200 μL、デッド200 μlとして、1 mlあれば、n=3以上の測定が可能。予備も含めて、1.3倍の係数を掛けて各24本とした。複数キット（機種）を有するメーカーではキット数分を配布する。

5．各キットによる測定

5－1．測定サンプル

評価用標準品と実検体を各メーカーに配布し、各キットのキャリブレーターを基準として測定する。

・評価用標準品：10種類、各6濃度

・実検体：30例

5－2．測定方法

・配布された評価用標準品と実検体は、測定まで-70 ℃以下で保存する。

（-70 ℃以下の冷凍庫が無い場合は、できるだけ低い温度で冷凍保存し、早めに測定する。）

・測定直前に室温で融解し十分に転倒混和する。

・各キットの添付文書等に従って測定する。

・測定濃度以外にオリジナルの信号値も得られるようにしておく。

・測定検体がオーバーレンジの場合は、希釈測定し参考値とする。
・測定回数、試薬ロット数は各メーカーで判断する。

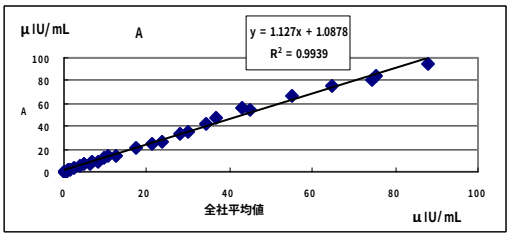
５－３．結果報告

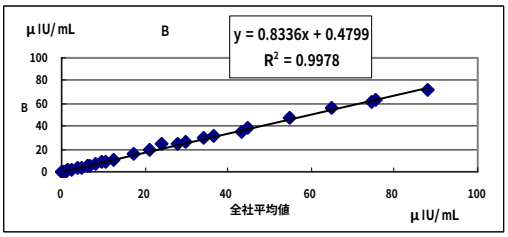
・別紙の結果報告書（エクセルファイル）に測定結果を入力し、データ集計担当者に送付する。
・報告する測定結果は、各メーカーによって平均値、中央値等を判断して代表値を報告する。

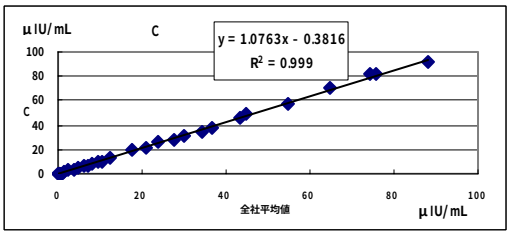
資料２　TSH 調査実験参加メーカー・試薬一覧表

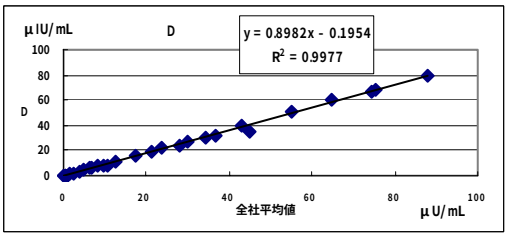
会社名	試薬名 （正式名称）	測定原理	測定機器
ベックマン・コールター株式会社	アクセスＴＳＨ	CLEIA 法	Access 2
栄研化学株式会社	Ab ビーズ TSHⅡ ‘栄研’	ｲﾑﾉﾗｼﾞｵﾒﾄﾘｯｸｱｯｾｲ法 （IRMA 法）	用手法
富士レビオ株式会社	ルミパルス TSH-N	CLEIA 法	ルミパルス フォルテ
株式会社三菱化学ヤトロン	LPIA-F・TSH テスト	時間分解蛍光 免疫測定法	LPIA-A700
日本ビオメリュー株式会社	バイダスアッセイキット TSH	ELFA 法 （Enzyme Linked Fluorescent Assay）	VIDAS 30
オリンパス株式会社	名称　未定	CLEIA 法	AU3000 i
オーソ･クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社	ビトロスＴＳＨ	CLEIA 法	ビトロスＥＣｉ
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	エクルーシス試薬 ＴＳＨ	ECLIA 法	モジュラーアナリティクス　E
ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社	エクルーシス試薬 ＴＳＨ	ECLIA 法	エクルーシス E2010
シスメックス株式会社	名称　未定	CLEIA 法	専用装置 （名称　未定）
東ソー株式会社	ST　E テスト 「TOHSOH」Ⅱ	FEIA 法	AIA-1800
和光純薬工業株式会社	スフィアライト TSHⅢ （識別番号 B）	CLEIA 法	スフィアライト 180

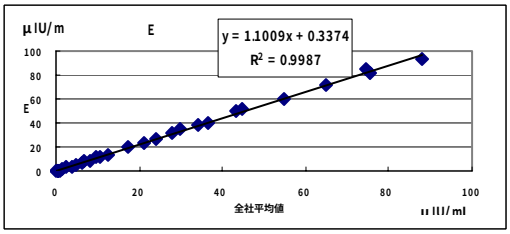
資料３　　TSH 実検体相関性

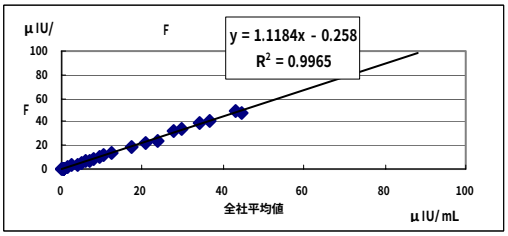


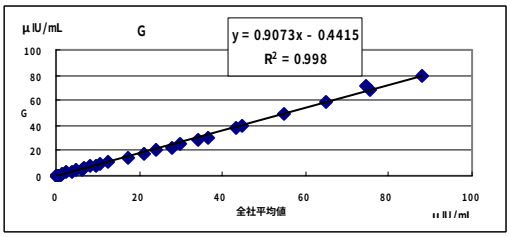


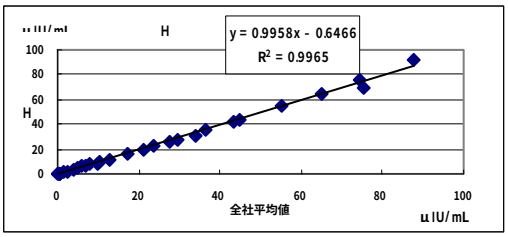


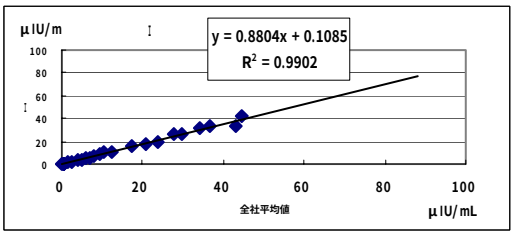


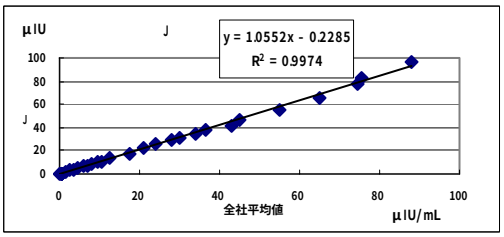


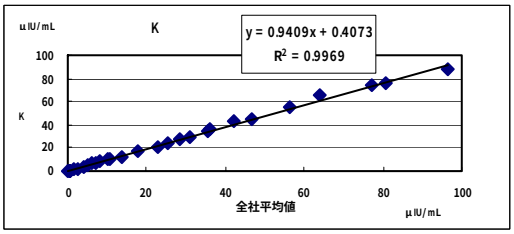


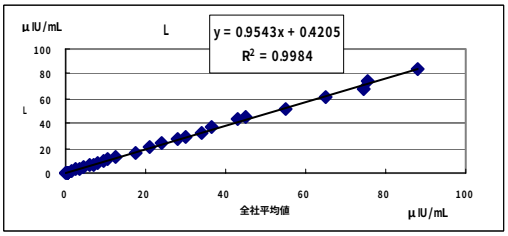




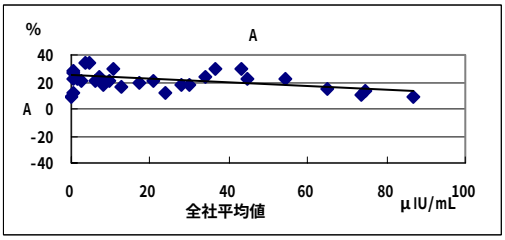


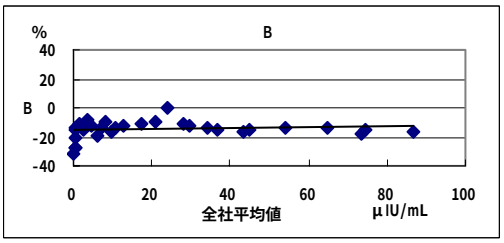


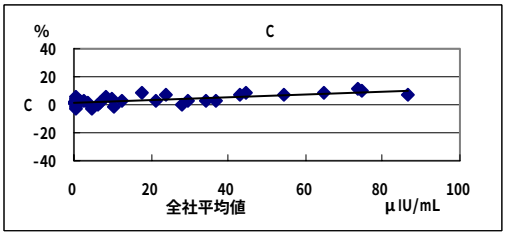


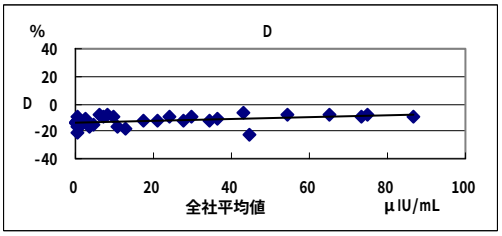


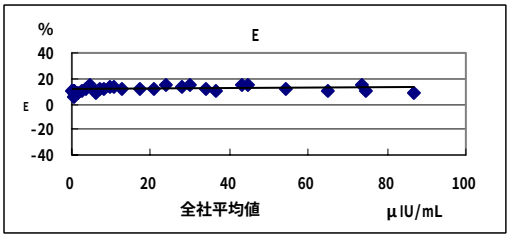
資料４　　全社平均値に対するバイアス

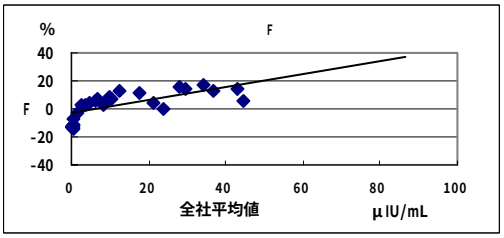


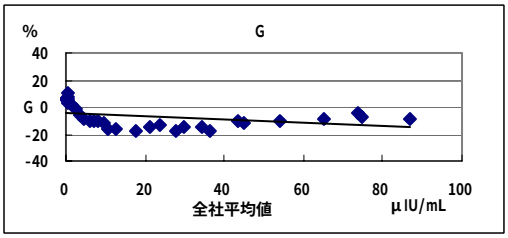


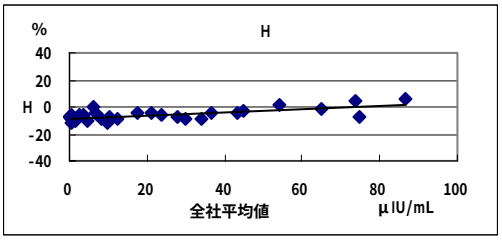


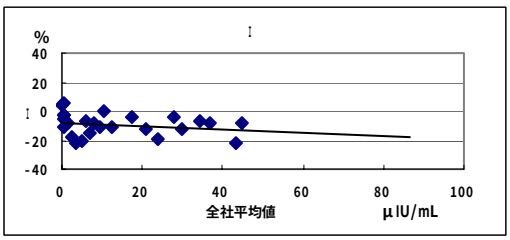


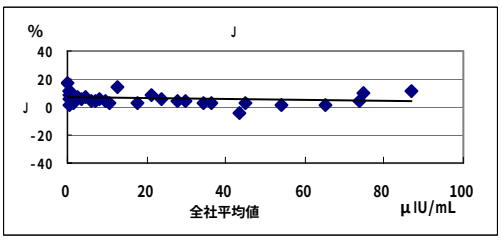


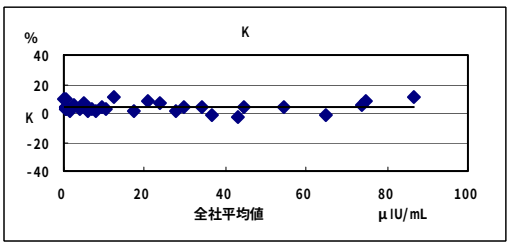


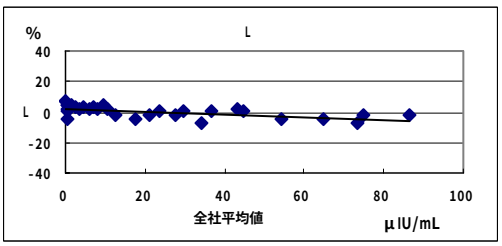












資料５　実検体測定値の全社平均値に対する割合

１．実検体測定結果

実検体No.	濃度ﾚﾍﾞﾙ (μIU/ml)	測定結果 (μIU/ml) A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	全社平均値	SD	CV(%)
1	ﾚﾍﾞﾙ1 0～0.5	0.20	0.12	0.19	0.16	0.20	0.16	0.19	0.17	0.19	0.22	0.20	0.20	0.18	0.03	13.8
2		0.36	0.24	0.31	0.27	0.32	0.26	0.32	0.26	0.29	0.33	0.31	0.30	0.30	0.04	12.3
3		0.45	0.30	0.43	0.35	0.45	0.36	0.45	0.38	0.43	0.43	0.41	0.43	0.40	0.05	11.8
4		0.59	0.34	0.45	0.40	0.51	0.41	0.48	0.43	0.45	0.51	0.50	0.47	0.46	0.07	14.2
5		0.76	0.44	0.50	0.40	0.53	0.44	0.53	0.46	0.45	0.55	0.53	0.49	0.51	0.09	18.5
6	ﾚﾍﾞﾙ2 0.5～5	0.92	0.62	0.77	0.61	0.81	0.68	0.76	0.67	0.70	0.75	0.76	0.76	0.73	0.09	11.6
7		1.77	1.30	1.49	1.24	1.59	1.41	1.47	1.31	1.34	1.50	1.48	1.52	1.45	0.15	10.1
8		2.98	2.10	2.53	2.18	2.72	2.55	2.43	2.32	2.02	2.65	2.60	2.53	2.47	0.28	11.2
9		4.98	3.40	3.75	3.12	4.14	3.84	3.48	3.48	2.87	3.94	3.81	3.81	3.72	0.53	14.4
10		6.33	4.13	4.63	4.02	5.48	4.97	4.32	4.28	3.73	5.10	5.06	4.87	4.74	0.72	15.2
11	ﾚﾍﾞﾙ3 5～10	7.42	4.95	6.10	5.64	6.66	6.49	5.52	6.12	5.66	6.36	6.24	6.22	6.11	0.63	10.3
12		8.58	5.96	7.02	6.30	7.72	7.44	6.18	6.65	5.93	7.25	7.16	7.21	6.95	0.79	11.3
13		9.49	7.21	8.50	7.45	8.93	8.31	7.17	7.34	7.35	8.44	8.13	8.15	8.04	0.75	9.3
14		11.65	8.01	10.04	8.65	10.86	10.47	8.52	8.50	8.58	10.06	9.96	10.00	9.61	1.13	11.8
15		13.60	9.15	10.42	8.72	11.94	11.25	8.80	9.69	10.57	10.80	10.78	10.71	10.54	1.38	13.1
16	ﾚﾍﾞﾙ4 10～50	14.69	11.02	12.94	10.36	14.06	14.21	10.60	11.45	11.23	14.36	13.93	12.43	12.61	1.62	12.8
17		20.79	15.40	19.05	15.29	19.44	19.42	14.47	16.74	16.60	17.86	17.68	16.58	17.44	1.94	11.1
18		25.40	19.12	21.71	18.27	23.36	22.02	18.00	19.96	18.33	22.93	22.62	20.49	21.02	2.36	11.2
19		26.71	23.77	25.59	21.77	27.43	23.82	20.75	22.62	19.23	25.17	25.38	24.13	23.86	2.43	10.2
20		32.69	24.91	27.90	24.41	31.70	32.09	22.95	25.78	26.57	28.99	28.35	27.41	27.81	3.14	11.3
21		34.95	25.98	30.55	27.09	34.39	33.86	25.42	27.05	25.94	31.18	31.03	29.81	29.77	3.46	11.6
22		42.37	29.63	35.17	29.82	38.32	39.78	29.09	31.31	31.61	35.07	35.77	31.85	34.15	4.33	12.7
23		47.28	31.10	37.47	32.51	40.57	41.16	30.32	34.84	33.68	37.39	36.21	36.61	36.59	4.77	13.0
24		56.24	35.75	46.08	40.17	49.74	49.33	38.51	41.16	33.57	41.60	42.30	43.96	43.20	6.37	14.7
25		54.77	38.17	48.70	34.90	51.69	47.41	39.27	43.45	41.26	46.21	46.46	44.78	44.76	5.73	12.8
26	ﾚﾍﾞﾙ5 50～100	65.99	46.84	57.98	50.25	60.82		48.98	54.93		55.39	56.34	51.81	54.93	5.78	10.5
27		74.93	56.16	70.94	59.96	71.71		59.05	64.07		66.02	64.08	61.77	64.87	6.06	9.3
28		81.43	60.55	82.04	66.24	84.63		70.70	76.47		77.22	77.31	68.05	74.46	7.79	10.5
29		84.24	63.68	82.00	68.24	82.04		68.96	69.71		82.16	80.81	73.53	75.54	7.50	9.9
30		94.75	71.86	92.28	78.67	93.61		78.78	91.20		96.73	96.40	84.64	87.89	8.79	10.0

２．全社平均値に対する比率（%）の各試薬平均値（測定値比率（%））

対象サンプル (μIU/mL)		全社平均値に対する比率(%)の各試薬平均値 A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	SD	CV (%)
レベル2及び3	0.5～10	125	86	102	87	111	103	93	93	88	105	103	103	100.0	11.2	11.2

資料６　評価用標準物資による各社試薬の測定値比率（%）の補正

１）各社測定値比率（%）と各評価用標準品の理論値に対する傾き

コード				A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	SD	CV (%)
測定値比率 (%)				125	86	102	87	111	103	93	93	88	105	103	103	99.9	11.3	11.3
評価用標準品	NIBSC (81/565)	下垂体由来	血清	1.71	1.45	1.26	0.87	1.20	1.03	0.90	1.14	0.56	0.95	0.90	1.00	1.08	0.30	27.8
			緩衝液	1.55	1.61	1.30	0.84	1.36	1.16	0.92	1.17	0.88	1.22	1.15	1.04	1.18	0.25	20.8
	NIBSC (94/674)	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ	血清	1.93	1.13	1.28	0.78	1.19	1.19	0.91	1.06	0.57	1.05	0.99	1.07	1.10	0.33	29.8
			緩衝液	1.76	1.26	1.38	0.79	1.37	1.37	1.01	1.18	0.97	1.41	1.34	1.09	1.24	0.26	20.5
	Fitzgerald	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ	血清	1.96	1.21	1.38	0.87	1.28	1.23	0.98	1.16	0.63	1.12	1.06	1.14	1.17	0.32	27.4
			緩衝液	1.98	1.38	1.55	0.88	1.63	1.48	1.10	1.34	1.06	1.55	1.47	1.23	1.39	0.29	21.2
	CALBIOCHEM	下垂体由来	血清	1.34	1.06	0.90	0.64	0.93	0.80	0.65	0.91	0.49	0.61	0.59	0.76	0.81	0.24	29.5
			緩衝液	1.19	1.18	0.95	0.66	1.01	0.89	0.67	0.91	0.80	0.79	0.74	0.78	0.88	0.18	20.1
	Aspen Bio	下垂体由来	血清	1.71	1.51	1.36	0.92	1.30	1.15	0.90	1.31	0.76	1.01	0.96	1.07	1.16	0.28	24.0
			緩衝液	1.66	1.68	1.43	0.98	1.53	1.37	0.94	1.50	1.02	1.35	1.28	1.13	1.32	0.26	19.5

２）各評価用標準品による各社試薬の測定値比率（%）の補正

(単位　%)

コード				A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	SD	CV (%)
測定値比率 (%)　＜補正前＞				125	86	102	87	111	103	93	93	88	105	103	103	99.9	11.3	11.3
補正後の測定値比率（%）	NIBSC (81/565)	下垂体由来	血清	73	59	81	100	92	100	103	81	158	111	115	103	98.2	25.0	25.4
			緩衝液	81	53	78	103	82	89	101	79	101	86	90	99	86.8	13.9	16.1
	NIBSC (94/674)	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ	血清	65	76	79	111	93	86	102	88	154	100	104	97	96.4	22.5	23.4
			緩衝液	71	68	74	110	81	75	92	79	91	74	77	94	82.2	12.2	14.8
	Fitzgerald	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ	血清	64	71	74	100	86	84	95	80	140	94	98	90	89.7	19.5	21.7
			緩衝液	63	62	66	98	68	69	85	69	83	68	70	84	73.8	11.0	14.9
	CALBIOCHEM	下垂体由来	血清	94	81	113	136	119	129	143	102	179	173	176	135	131.6	32.2	24.5
			緩衝液	105	73	107	132	110	116	140	103	110	133	139	131	116.5	19.4	16.7
	Aspen Bio	下垂体由来	血清	73	57	75	94	85	90	104	71	115	104	107	96	89.3	17.4	19.5
			緩衝液	75	51	71	89	72	75	99	62	87	78	80	91	77.6	13.1	16.9

資料７　実検体試料を基準とした標準化方法によるシミュレーション結果

１．補正後の検体測定結果

実検体No.	濃度ﾚﾍﾞﾙ (μIU/ml)	測定結果 (μIU/ml) A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	全社平均値	SD	CV(%)
1	ﾚﾍﾞﾙ1 0～0.5	0.15	0.14	0.18	0.18	0.17	0.14	0.21	0.18	0.21	0.20	0.18	0.19	0.18	0.02	13.2
2		0.27	0.27	0.30	0.31	0.28	0.23	0.35	0.28	0.32	0.30	0.28	0.30	0.29	0.03	10.2
3		0.34	0.33	0.42	0.41	0.38	0.32	0.49	0.41	0.47	0.39	0.38	0.42	0.40	0.05	12.7
4		0.44	0.38	0.44	0.46	0.43	0.36	0.53	0.46	0.49	0.46	0.46	0.46	0.45	0.04	9.8
5		0.56	0.49	0.50	0.46	0.45	0.39	0.58	0.50	0.49	0.50	0.48	0.48	0.49	0.05	10.1
6	ﾚﾍﾞﾙ2 0.5～5	0.68	0.70	0.76	0.71	0.69	0.61	0.82	0.72	0.76	0.68	0.69	0.75	0.71	0.05	7.6
7		1.31	1.47	1.47	1.42	1.35	1.25	1.60	1.41	1.46	1.37	1.35	1.49	1.41	0.09	6.7
8		2.20	2.37	2.51	2.51	2.31	2.27	2.65	2.50	2.20	2.41	2.37	2.48	2.40	0.14	5.7
9		3.69	3.84	3.71	3.59	3.52	3.42	3.79	3.76	3.13	3.59	3.47	3.74	3.60	0.20	5.5
10		4.68	4.66	4.58	4.62	4.66	4.42	4.71	4.62	4.07	4.64	4.60	4.77	4.59	0.18	4.0
11	ﾚﾍﾞﾙ3 5～10	5.49	5.59	6.04	6.49	5.66	5.77	6.02	6.60	6.17	5.79	5.68	6.09	5.95	0.35	5.9
12		6.35	6.74	6.94	7.24	6.56	6.62	6.74	7.18	6.46	6.60	6.52	7.07	6.75	0.29	4.3
13		7.02	8.14	8.42	8.56	7.59	7.39	7.82	7.93	8.01	7.68	7.40	7.98	7.83	0.44	5.7
14		8.62	9.05	9.94	9.95	9.23	9.32	9.29	9.18	9.35	9.15	9.06	9.80	9.33	0.39	4.2
15		10.07	10.33	10.31	10.03	10.15	10.01	9.60	10.46	11.52	9.83	9.81	10.49	10.22	0.49	4.8
16	ﾚﾍﾞﾙ4 10～50	10.87	12.45	12.81	11.92	11.95	12.65	11.56	12.36	12.24	13.07	12.68	12.18	12.23	0.60	4.9
17		15.38	17.40	18.85	17.58	16.52	17.28	15.77	18.07	18.09	16.25	16.09	16.25	16.96	1.07	6.3
18		18.80	21.60	21.50	21.01	19.86	19.59	19.62	21.56	19.98	20.87	20.58	20.08	20.42	0.90	4.4
19		19.76	26.87	25.33	25.03	23.31	21.20	22.61	24.43	20.96	22.90	23.10	23.64	23.26	2.01	8.6
20		24.19	28.15	27.62	28.07	26.95	28.56	25.02	27.84	28.96	26.38	25.80	26.87	27.03	1.46	5.4
21		25.86	29.36	30.24	31.15	29.23	30.13	27.70	29.21	28.28	28.37	28.24	29.21	28.92	1.37	4.7
22		31.36	33.48	34.82	34.30	32.57	35.40	31.71	33.81	34.45	31.91	32.55	31.21	33.13	1.44	4.3
23		34.99	35.14	37.09	37.38	34.48	36.63	33.05	37.62	36.71	34.02	32.95	35.87	35.50	1.64	4.6
24		41.61	40.40	45.62	46.19	42.28	43.91	41.97	44.45	36.59	37.86	38.49	43.08	41.87	3.06	7.3
25		40.53	43.13	48.22	40.13	43.94	42.19	42.80	46.93	44.97	42.05	42.28	43.88	43.42	2.38	5.5
26	ﾚﾍﾞﾙ5 50～100	48.83	52.93	57.40	57.79	51.70		53.39	59.32		50.40	51.27	50.78	53.38	3.57	6.7
27		55.44	63.46	70.23	68.96	60.96		64.37	69.19		60.08	58.31	60.54	63.15	5.01	7.9
28		60.26	68.42	81.22	76.18	71.94		77.06	82.58		70.27	70.35	66.69	72.50	6.85	9.4
29		62.34	71.95	81.18	78.47	69.73		75.17	75.29		74.77	73.54	72.05	73.45	5.11	7.0
30		70.12	81.20	91.36	90.48	79.57		85.87	98.50		88.02	87.72	82.95	85.58	7.72	9.0

２．補正後の測定値比率（%）（全社平均値に対する比率（%）の各試薬平均値）

対象サンプル (μIU/mL)		全社平均値に対する比率(%)の各試薬平均値 A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	SD	CV (%)
レベル2及び3	0.5～10	95	101	104	103	98	95	104	103	99	98	97	104	100	3.6	3.6

２－４－２－１２　サイログロブリン（Tg）

要旨

１）サイログロブリン（以下 Tg）の各社測定試薬の値付けならびに測定試薬間の関係の把握と値付けに調査を行なった。

２）報告を得た試薬においては、一次標準品は全て IRMM　CRM457 を基準に値付けがなされていた。その為、各測定試薬間では、相関係数 0.939 以上、傾き 0.93～1.18　切片-2.21～10.86、と良好な関係であった。従って、ヒト血清を用いた場合には、良好な互換性が現在においても確保されているもの、と推察された。

３）今後、実用標準品を作成するに当たっては、TSH で見られた、ヒト血清と人工的な製造物（純品＋緩衝液、マトリックス系）との反応性の相違を見出すことも予想されるため、共同実験において、ヒト血清と人工試料の反応性を検討が必須であるとともに、プール血清への値付けによる実試料標準物質の作成を視野に入れた検討が必要である、と考えら、それに向かっての共同実験計画を策定した。

１．目的

調査研究項目群、C6（TSH、T3、FT3、T4、FT4、Tg(サイログロブリン)）内の Tg（サイログロブリン）について、「各社測定試薬間の関係を把握すること及び校正用標準品の候補品について調査検討を行う」ことが本調査究の目的である。

２．委員会の構成

・アドバイザー	家入　蒼生夫（獨協医科大学臨床医学科臨床検査医学）
	小田桐　恵美（東京女子医科大学大学院医学研究科中央検査部）
	桑　克彦（筑波大学大学院人間総合科学研究科）
	森下　芳孝（三重大学医学部附属病院中央検査部）
・WG　C6 責任者	下川 洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・運営管理者	吉田 雅之（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・Tg 実行計画担当	阪崎　伸一郎（栄研化学株式会社）
・Tg 調査報告書担当	下川 洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）

・協力メーカー技術担当者（名簿順）

会社名	技術担当者		Tg該当メーカー
	（正）	（副）	
栄研化学（株）	阪崎伸一郎	小林　隆	○
ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	滝本 徹男		---
オリンパス（株）	御子柴　浩		---
（株）コスミック コーポレーション	菊地 強		○
三洋化成工業（株）	誉田 大仁		---
シスメックス（株）	上野 哲男		---
デイド　ベーリング（株）	斉藤 憲祐		---
東ソー（株）	塚本 久雄		---
日本ビオメリュー（株）	赤野　恭子		---
富士レビオ（株）	村上　弘		---
ベックマン・コールター（株）	月本あつ子		○
（株）三菱化学ヤトロン	山岸 俊哉		---
ヤマサ醤油（株）	作田 俊隆	岩朝 勝啓	○
ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	下川 洋太郎	吉田 雅之	○
和光純薬工業（株）	山本 幸子		---

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/8（火）13：00～17：30　（臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/5（月）13：00～17：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/1/23（月）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/8/21（月）15：00～17：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/12/27（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第６回会合：2007/2/14（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）予定

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

①市販されている標準物質

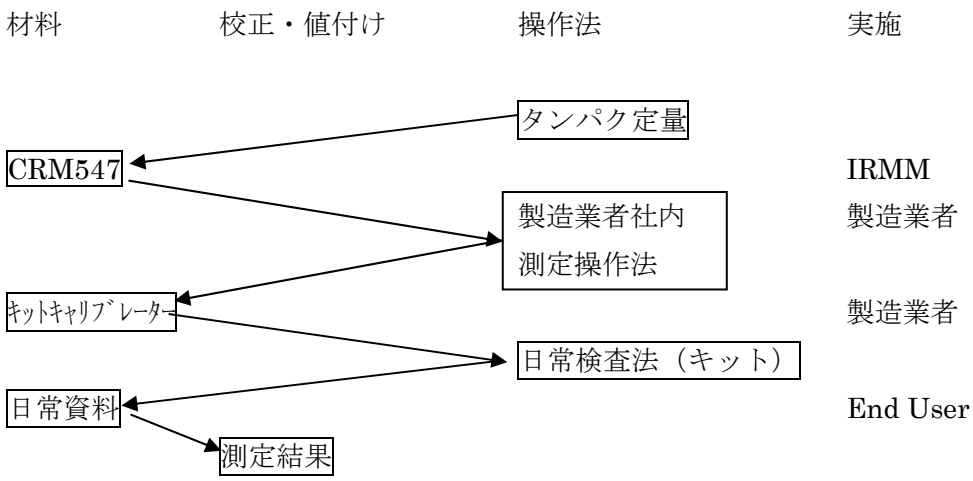
Ｔｇの公的標準品として認知されている物質は、IRMM の CRM４５７がある。

CRM457 は、ヒト由来のサイログロブリン精製品である、タンパク量を測定し、そのバイアルに含まれるサイログロブリンを規定したものである。

各メーカーは公的標準品であるい CRM457 を基準物質として、自社の基準測定法により、社内の常用標準品を作成、その測定値を各社キットのｽﾀﾝﾀﾞｰﾄﾞ（標準品）、キャリブレーターに移すことで、トレーサビリティを確保している。

企業名	キット名	一次標準品名
栄研化学	Ab ビーズ サイログロブリン '栄研'	IRMM CRM457
コスミック	サイログロブリン 「コスミック」	IRMM CRM457
コスミック	サイログロブリン ELISA 「コスミック」	IRMM CRM457
ヤマサ	DYNOtest TG-pluS キット「ヤマサ」	IRMM CRM457
ベックマン	アクセス サイログロブリン	IRMM CRM457
ロシュ	エクルーシス試薬 Tg	IRMM CRM457

図１.サイログロブリンのトレーサビリティ連鎖



②Tg 測定の実態調査

サイログロブリンは、国内での外部精度管理調査は実施されていない項目のため、各メーカーの検討データにより互換性を検討した。

相関データにおいては、各社の検討データより下記の如く、相関係数 0.939 以上、傾き 0.93～1.18　切片-2.21～10.86 と、非常に良好な関係である。

報告企業	X 軸キット	Y 軸キット	相関係数	傾き	切片	例数	濃度範囲
A	B-1	A-1	0.955	1.02	-2.21	168	0-100ng/mL
A	A-2 (発売中止)	A-1	0.98	0.969	2.629	73	
C	A-1	C-1	0.97	0.99	2.85	52	0-350ng/mL
C	C-1	C-2	0.96	0.994	2.595	152	0-300ng/mL
D	E	D-1	0.986	0.95	-1.94	194	0-1000ng/mL
F	D-1	F-1	0.939	1.18	10.68	69	
G	A-1	G-1	0.99	0.93	1.44	108	0-1000ng/mL

４－２　標準化および標準物質の設定経過

各社試薬による Tg 測定の実態を調査するため、実検体を用いた調査実験を実施する必要がある。その為、共同実験（案）として、以下にその実験計画書に記載する。

サイログロブリン共同実験(案)

(1). 各メーカー測定試薬の比較

① 標準化基本検討委員会　柱1で最初に作成された実行計画書案には、公的標準物質や純物質などの抗原を各メーカーのキャリブレーターのベースに添加して校正用標準品を作成する方法、すなわち抗原のみ共通化する方法が提案されていたが、特に外資系メーカーではこのような検討が困難であるため、添加抗原とベースを共通化した評価用標準品をいくつか作成して、各メーカー測定試薬で比較検討する方法を選択する。

② 共通化された評価用標準品の中から、標準化のための校正用標準品として適したものを見出すことができれば、トレーサビリティシステムにおける、実用標準品や常用標準品としても使用できる可能性もある。

③ 各メーカーのキャリブレーターを、各メーカー測定試薬で互いに測定する方法については、キャリブレーターへの各種添加物が、他社測定試薬の測定に影響を及ぼす可能性があることから、測定対象から除外する。

●各メーカー測定試薬

会社名	試薬名	標準品
栄研化学	Ab ﾋﾞｰｽﾞｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ	標準ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ
ｺｽﾐｯｸ ｺｰﾎﾟﾚｰｼｮﾝ	ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ「ｺｽﾐｯｸ」 ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ ELISA「ｺｽﾐｯｸ」	標準ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ 標準ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ
ﾍﾞｯｸﾏﾝ ｺｰﾙﾀｰ	ｱｸｾｽ Tg 試薬	ｱｸｾｽ Tg ｷｬﾘﾌﾞﾚｰﾀｰ
ﾔﾏｻ醤油	DYNOtestTG-plus ｷｯﾄ	標準ｻｲﾛｸﾞﾛﾌﾞﾘﾝ
ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ	ｴｸﾙｰｼｽ Tg 試薬	ｴｸﾙｰｼｽ Tg ｷｬﾘﾌﾞﾚｰﾀｰ

(2). 検討用試薬及び材料等の購入

一連の計画を実行するために必要な試薬等の概要は以下の通りである。

●必要な試薬等の概要

品　名	使 用 目 的	入手方法
測定試薬	検討試料を測定するために使用	各メーカー負担
公的標準品	検討結果と公的標準品との関係を明確にするために使用	WG で購入
血清検体	測定値間差の検証するために使用	JCCLS より提供
抗原	「推奨できる国内標準品」の検討に使用	WG で購入
血清	血清系ﾏﾄﾘｯｸｽの調製に使用	WG で購入
緩衝液成分	Buffer 系ﾏﾄﾘｯｸｽの調製に使用	各メーカー負担
保存容器	検討試料の保管に使用	各メーカー負担

(3). 材料の選定

(3)－1. 公的標準物質の選定

① 公的標準物質としては、CRM457 (ヒト甲状腺由来) が確立され、入手可能である。

② 各メーカー測定試薬は、これを基準にキャリブレーターを値付けしており、 本調査研究に用いる公的標準物質としては、各メーカーに認知されている下記の標準品を選定する。

●公的標準 Tg (ヒト甲状腺由来)

品名	CRM457　　(Human Thyroglobulin)
認証団体	IRMM　(ｲﾝｽﾃｨﾁｭｰﾄ ﾌｫｱ ﾘﾌｧﾚﾝｽﾏﾃﾘｱﾙｽﾞ ｱﾝﾄﾞ ﾒｼﾞｬｰﾒﾝﾄ)
コード番号	BCR457
由来	Human Thyroid
販売元	Sigma

(3)－2. 校正用標準品の材料とする抗原候補の選定

① 添加抗原には公的標準物質と同様のヒト甲状腺由来品が適切と考える。

② ヒト甲状腺由来品は精製抗原であるため、製品によって性状が異なる可能性がある。そこで、複数の
メーカーから精製抗原を入手して比較検討する。

●精製Tg(ヒト甲状腺由来)

販売元	Cortex Biochem Inc. (USA)	Biogenesis Ltd, (UK)
品番	CP1028U	190A
グレード	Purity:＞98%	Purity:＞98%
国内販社	COSMO BIO	COSMO BIO

(3)－3. 校正用標準品の材料とするベース候補の選定

① 抗原添加用のベースは、臨床検体に近い条件とすることに重点を置いた場合には、血清ベースが望ましいが、血清はロットが代われば組成は異なるため、性状が変化する心配がある。

② 血清ベースと緩衝液ベースとの間で性能に差がなければ、安定供給の観点から緩衝液ベースが望ましいことから、血清ベースと緩衝液ベースの 2 種を比較検討する。

(3)－3－1. 血清ベース

① ベース血清中にTgの自己抗体が存在することは適切ではない。

② ヒト血清からTgの自己抗体を完全に除くことは困難であることから、血清ベースには動物血清を用いる。

●動物血清 〔TSH の血清ベース例〕

動物種	馬血清
メーカー	Scantibodies Lab, Inc.
品番	3SE163
処理の必要性 ・pH 調整、加熱、その他	加熱(54℃ 3h) Tris(pH 7.5)
国内販社	長瀬産業

(3)－3－2. 緩衝液ベース

① 緩衝液の組成は、各メーカーの経験を参考に緩衝液系マトリックスとして、1%BSA 含有 Tris–HCL 緩衝液(pH7. 5)を選択する。

② 各測定試薬の測定に影響する可能性のあるキレート剤、アジ化ナトリウム、界面活性剤、合成高分子は添加しない。

●緩衝液(組成) 50mM トリス, 1%BSA, pH7.5 〔TSH の緩衝液ベース例〕

	緩衝剤	BSA
仕様	50mM Tris (pH7.5)	BSA (1%)
販売元	Sigma	Sigma
品番	T1503	A7030

(4). 評価用標準品の作製

(4)－1. 評価用標準品の種類と作製数量

① 3種類の抗原(1種の公的標準物質 + 2種の抗原候補品)と2種類のベース(血清、緩衝液)の組み合わせで、下表の6種類の評価用標準品を作製する。

② サンプルの作製は WG 協力メーカーに有償で委託する。

(4)－2. 評価用標準品の抗原の添加濃度と濃度ポイント

① 評価用標準品の濃度は、各メーカーの測定範囲を参考に 0、5、10、20、50、100、200 ng/mL の7ポイントとする。

② 各濃度に調製するための抗原の添加量は、各抗原の表示値を元に計算する。ただし、各抗原は由来や供給元が異なるため、それぞれの表示値には互換性が無い可能性が高いため、絶対的な濃度ではないことに留意しておく必要がある。

(4)－3. 評価用標準品の調整方法

① 検討用試料は重量希釈法で正確に作製し、原液濃度とのトレーサビリティがとれるようにする。

(4)－4. 評価用標準品の検体量の算出根拠

① 5社、7試薬分として算出。

② アンケートの結果、検体必要量は最大で1テスト200uL、デッド200uL として、1mL あれば、3重測定以上の測定が可能。追加検討も考慮して、1mL に小分け凍結したものを各10本(7試薬分＋予備3本)として算出した(約1. 4倍)。

③ 1 本ずつ各メーカーに配布する。ただし、複数の測定試薬(機種)を有するメーカーには機種数分をプラスして配布する。

●評価用標準品の種類と作製数量

評価用標準品	抗原	ベース	濃度ポイント	作製数量
系列(1)	CRM457 (甲状腺由来)	血清	7	各1ml x 10本
系列(2)		緩衝液	7	各1ml x 10本
系列(3)	甲状腺由来Tg (CP1028U)	血清	7	各1ml x 10本
系列(4)		緩衝液	7	各1ml x 10本
系列(5)	甲状腺由来 (190A UK)	血清	7	各1ml x 10本
系列(6)		緩衝液	7	各1ml x 10本
全サンプル本数			6種類x7濃度x10本＝420本	

(4)－5. 標準品作製後の保存条件と安定性の確認

(4)－5－1. 保存条件

① 各標準品は作製後、1mlに分注して－70℃以下で凍結保存する。

② 配送する場合は、保冷剤としてドライアイスを使用する。

(4)－5－2. 凍結融解の影響

① 凍結保存前、凍結保存後に融解させたものを測定し、凍結融解の影響の有無を確認する。

② 測定には、協力メーカーの測定試薬を用いる。

(4)－5－3. 融解後の安定性

① 温度条件は、室温(20～25℃)と冷蔵(4～8℃)で行う。

② 融解直後、1、2、4、8、24時間経過後に測定し、安定性を確認する。

(5). 実検体の収集

(5)－1. 血清検体の収集

① 評価用標準品の評価には、実検体を一緒に測定して、比較検討することが不可欠であり、以下の実検体の収集をJCCLSに委託する。

② 本検討に用いるヒト検体は、「JCCLS標準化基本検討委員会 柱1:臨床検査用標準物質の研究開発」で測定するヒト検体についての見解(2006年1月10日)」に従って配布されたものを用いるものとする。

③ 各メーカーの測定レンジの情報に基づき、0～500ng/mLを検証する濃度域を設定する。

④ 検体はプール血清の場合も可能とする。 検体をプールする場合の注意点として、サイロイドテストもしくは抗Tg抗体陰性検体からプールすることを依頼する。

●血清検体

濃度域 (ng/mL)	検体数(本)	検体量(mL) / 1検体
0～10	5	10 mL
10～50	5	10 mL
50～200	5	10 mL
200～500	5	10 mL

(5)－2. 試料の保存･配布方法

① 凍結保存品として、1mL 小分け凍結する。

② 複数の試薬(機種)を有するメーカーへは各測定試薬数分を配布する。

(6). 各メーカー測定試薬による測定

① 配布された評価用標準品と実検体は、測定まで－70℃以下で保存する。
－70℃以下の冷凍庫が無い場合は、できるだけ低い温度で冷凍保存し、早めに測定する。

② 測定直前に室温で融解し十分に転倒混和する。

③ 各メーカー試薬のキャリブレーターを基準として、添付文書等に従って測定する。

④ 測定濃度以外にオリジナルの信号値も得られるようにしておく。

⑤ 測定検体がオーバーレンジの場合は、希釈測定し参考値とする。

⑥ 測定回数、試薬ロット数は各メーカーで判断する。

(7). 各メーカー測定値間差の是正

(7)－1. 検証方法

① 各メーカー固有の測定試薬及びキャリブレーター用い、血清検体(20例以上)を各2重測定する。

② 必要があれば、各メーカー固有の検体希釈液を用いた測定を行っても良い。

③ 得られた測定結果は、WG 共通ファーマットにてデータまとめ担当者へ送付する。

④ 報告する測定結果は、各メーカーによって平均値、中央値等を判断して代表値を報告する。

(7)－2. 結果の評価方法

① 暫定代表試薬を設定し、各メーカー測定試薬との相関性評価、各検体の収束性評価等によって、測定試薬差の現状を確認する。

② 指標には回帰式及び相関係数を用いる。

③ 乖離値の有無についても確認し、各メーカー測定試薬での測定値間差是正について考察する。

(8). 校正用標準品の候補評価

(8)－1. 検証方法

① 各メーカー固有の測定試薬及びキャリブレーターを用い【前記6.】で作製した試料(バッファー系7濃度、血清系7濃度)を測定(各2重測定以上)する。

② 得られた測定結果は、WG 共通ファーマットにてデータまとめ担当者へ送付する。

(8)－2. 結果の評価方法

① マトリックス種と抗原種の組合せ毎に各メーカー試薬の測定値を集計し、【前記9.】と同様の手法で評価する。

② 公的標準品の測定結果、患者検体と健常人検体測定結果とを併せて考慮し、妥当性のあるマトリックスと抗原の組合せを見出すことができれば「校正用標準品候補」とする。

③ 校正用標準品候補で、各メーカーのキャリブレーターを補正して、実検体の測定結果を換算し、測定試薬間の相関性評価、各検体の収束性評価、等を実施する。

（８）－３　標準物質の設定

共同実験後、設定を行なう

５　標準物質の設定概要

共同実験後、設定を行なう

６．標準物質の作成プロトコル

共同実験後、設定を行なう

２－４－２－１３　フリーT3、フリーT4

要旨

１）血清中のフリーT3、フリーT4（以下、FT3、FT4 と略する）測定について、測定値の互換性の現状、校正用標準品の設定方法、標準化の収束化を検討した。

２）FT3、FT4 のいずれにおいても患者検体によるキット間の傾向とコントロールサーベイによる傾向は、明らかに異なるものであった。

３）FT3、FT4 は、現在国際標準品が無く、各社独自の方法による濃度が設定されている。

４）FT3、FT4 の標準化を進める為には、最適な値づけを行なう方法と市販製品の測定方法の両面にわたり、考慮が必要と考えられた。

５）IFCC においても FT4 の標準化の検討が始まっており、IFCC で上げられる手法を参考にすることが、最も効果的で確実な標準化への道と考えられた。

１．目的

調査研究項目群C6（TSH、T3、FT3、T4、FT4、サイログロブリン）内のFT3、FT4（遊離型甲状腺ホルモン）について、「各社測定試薬間の相関関係を把握し、校正用標準品による測定値の収束性についての調査」を目的とする。

２．委員会の構成

本委員会は、標準化柱1C6・WGで、メンバーの構成を下記に記す。

・アドバイザー（順不同）

家入　蒼生夫（獨協医科大学臨床医学科臨床検査医学）

小田桐　恵美（東京女子医科大学大学院医学研究科中央検査部）

桑　克彦（筑波大学大学院人間総合科学研究科）

森下　芳孝（三重大学医学部附属病院中央検査部）

・WG C6 責任者　下川 洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）

・運営管理者　吉田 雅之（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）

・FT3・FT4 報告書担当　滝本　徹男（ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社）

・協力メーカー技術担当者（名簿順）

会社名	技術担当者		FT3、FT4該当メーカー
	（正）	（副）	
ベックマン・コールター（株）	月本あつ子		○
（株）コスミック コーポレーション	菊地 強		---
デイド ベーリング（株）	斉藤 憲祐		○
栄研化学（株）	阪崎伸一郎	小林 隆	---
富士レビオ（株）	村上 弘		○
（株）三菱化学ヤトロン	齋藤 真人		○
日本ビオメリュー（株）	赤野 恭子		○
オリンパス（株）	御子柴 浩		○
ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	滝本 徹男		○
ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	下川 洋太郎	吉田 雅之	○
三洋化成工業（株）	誉田 大仁		○
シスメックス（株）	上野 哲男		○
東ソー（株）	塚本 久雄		○
和光純薬工業（株）	山本 幸子		---
ヤマサ醤油（株）	作田 俊隆	岩朝 勝啓	---

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/8（火）13：00～17：30 （臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/5（月）13：00～17：00 （臨薬協会議室）
第３回会合：2006/1/23（月）13：00～15：00 （臨薬協会議室）
責任者・計画作成者対象会合：2006/7/12(水) 11：30～12：45（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/8/21（月）15：00～17：00 （臨薬協会議室）
第５回会合：2006/12/27（水）13：00～15：00 （臨薬協会議室）
第６回会合：2007/2/14（水）13：00～15：00 （臨薬協会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

患者試料でのキット間差の比較：

測定項目：FT3

報告企業	X 軸キット	Y 軸キット	相関係数	傾き	切片	例数	濃度範囲
A	A-1	A-2	0.976	0.92	0.18	329	0.39-22.8
B	A-1	B-1	0.973	1	-0.11	168	0-30
B	B-1	B-2	0.994	0.97	-0.41	90	0-30
B	D-1	B-2	0.95	0.81	0.77	46	0-10
C	H-1	C-1	0.974	0.658	1.165	78	0.30-30
D	A-1	D-1	0.993	1.061	-0.756	108	0-25
D	F-1	D-1	0.98	0.82	0.124	355	0-20
E	E-1	E-2	0.991	1.03	0.02	60	0-26
F	A-1	F-1	0.968	1.325	-1.24	675	0-20
F	H-1	F-1	0.971	1.06	0.67	118	0-30
G	A-1	G-1	0.982	1.079	0.002	291	0-20
G	I-1	G-1	0.979	0.965	0.003	291	0-20

（単位：pg/mL）

測定項目：FT4

報告企業	X 軸キット	Y 軸キット	相関係数	傾き	切片	例数	濃度範囲
A	A-3	A-4	0.984	1.08	0.06	242	0.03-6.99
B	A-3	B-3	0.985	0.95	-0.12	181	0-10
B	B-3	B-4	0.997	1.02	0.01	72	0-10
B	D-2	B-4	0.92	0.88	0.04	85	0-3
C	H-2	C-2	0.966	1.135	-0.19	82	0.15-6.0
D	A-3	D-2	0.991	1.059	-0.037	78	0-7
D	F-2	D-2	0.99	1.155	-0.127	358	0-7
E	E-3	E-4	0.987	0.97	0.08	60	0-10
F	A-3	F-2	0.969	1.021	-0.042	978	0-8
F	F-2	I-3	0.99	0.876	0.044	119	0-8
G	A-3	G-2	0.976	1.014	0.011	100	0-10
G	I-2	G-2	0.987	1.013	0.106	195	0-10

（単位：ng/100mL）

回帰式の傾きの多くが、　およそ 0.9 から 1.1 の間に留まり、且つ切片も小さい事から　キット間差が小さい良好な関係にあることが認められた。

外部精度管理試料でのキット間差の比較：

「第 26 回、第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ成績報告書」(2004、2005 年）より、FT3 のキット間差を示す表を改変して示した。

第 26 回（2004 年）

	Free T3							(単位：pg/mL)
キット	試料B-1				試料B-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	1.13	±	0.11	9.8	8.73	±	0.12	1.4
	1.16	±	0.08	6.7	8.71	±	0.10	1.1
2	1.08	±	0.14	12.7	11.34	±	0.43	3.8
	1.08	±	0.09	8.5	11.34	±	0.26	2.3
3	1.22	±	0.11	9.2	9.84	±	0.40	4.1
	1.20	±	0.10	7.9	9.79	±	0.35	3.6
4	0.79	±	0.23	29.6	10.35	±	0.78	7.5
5	0.84	±	0.14	16.8	13.65	±	0.42	3.1
6	1.20	±	0.11	9.1	12.17	±	0.42	3.4
7	1.05	±	0.17	16.4	12.27	±	1.30	10.6
8	1.57	±	0.11	6.7	14.03	±	0.12	0.8
9	1.79	±	0.10	5.7	6.55	±	0.21	3.3
10	1.56	±	0.51	32.5	6.29	±	0.70	11.1
11	0.28		-	-	4.79		-	-
12	0.47		-	-	17.33		-	-
13	0.58		-	-	11.99		-	-
14	0.57		-	-	13.81		-	-
15	0.73		-	-	8.27		-	-
16	-		-	-	13.59		-	-

第 27 回（2005 年）

キット	Free T3							（単位：pg/mL）
	試料B-1				試料B-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	2.47	±	0.05	1.8	10.47	±	0.20	1.9
					10.50	±	0.16	1.6
2	2.76	±	0.12	4.2	13.62	±	0.36	2.7
					13.65	±	0.32	2.4
3	2.41	±	0.32	13.5	10.50	±	0.69	6.6
	2.38	±	0.30	12.6	10.42	±	0.55	5.2
4	1.92	±	0.24	12.5	12.07	±	1.04	8.6
5	2.24	±	0.10	4.4	13.12	±	0.59	4.5
6	2.77	±	0.16	5.7	11.46	±	0.35	3.0
	2.81	±	0.09	3.3				
7	1.45	±	0.25	17.2	10.07	±	0.44	4.3
8	2.05	±	0.16	7.9	8.68	±	0.43	4.9
9	1.75	±	0.30	17.3	10.35	±	1.08	10.5
10	2.22	±	0.25	11.1	9.09	±	0.33	3.7
12	2.34		-	-	17.61		-	-
13	1.86		-	-	15.84		-	-
14	2.41		-	-	9.73		-	-
16	2.19	±	0.11	5.1	12.90	±	0.33	2.5

「キット 7」を基準にして「キット 1」と 2 回の結果を比較すると、第 26 回の低濃度試料（B-1）がほぼ同等の、高濃度試料（B-2）においては「キット 1」が低値の傾向であったのに対して、第 27 回のそれは、「キット 1」の低濃度試料（D-1）が明らかに高値、高濃度試料（D-2）は、ほぼ同等の関係が認められ、2 回のキット間差は、異なる傾向を示していた。また、他の製品についても同様の傾向が伺えた。更に、患者検体におけるものとも異なる傾向が認められ、サーベイで使用された試料は、実検体におけるキット間差を反映していないと推測された。

日本医師会サーベイ成績報告（2002、2003 年）より、FT4 のキット間差を示すツインプロット図として、図-1、-2 に、その結果を示した。

図-1、2 でのプロットが、それぞれ同じ製品を表示したものになっているにもかかわらず、2 回の散布図は、明らかに異なる分布を示していることがわかる。

図-1　2002 年　FT4のツインプロット

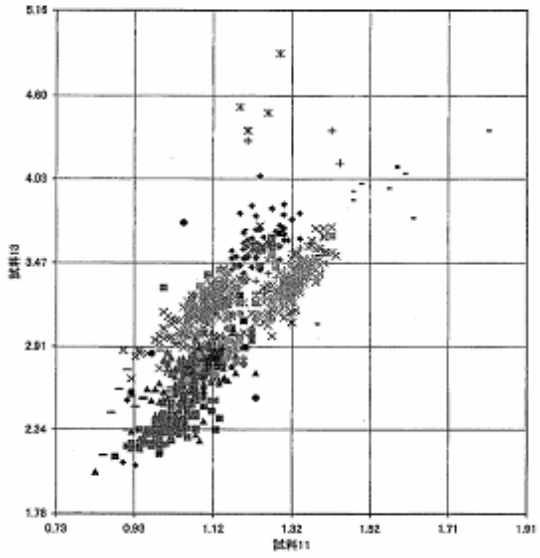
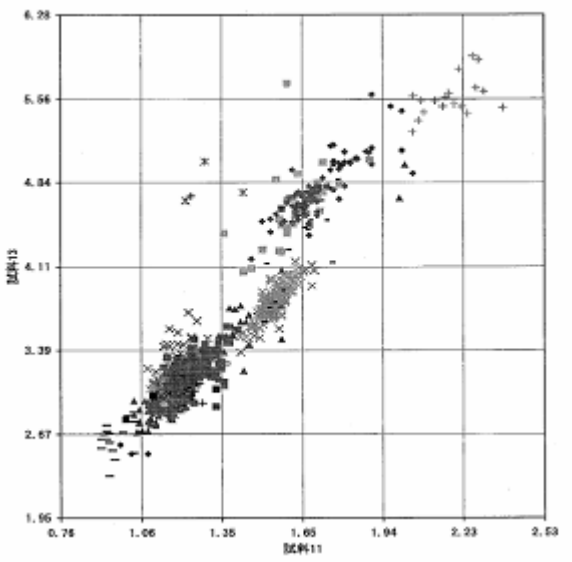


図-2　2003 年　FT4のツインプロット



このことより、サーベイで使用された試料の影響によりキット間差の傾向が明らかに異なり、サーベイで使用された試料は、実検体におけるキット間差を反映していないと推測された。

また、患者検体におけるものとも異なる傾向からも、サーベイで使用された試料は、実検体におけるキット間差を反映していないと推測された。

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

FT3、FT4 は、現在国際標準品なるものが無く、以下の表に示すように、各社独自の方法による濃度が設定されているのが実情である。これらの中より、代表的なトレーサビリティ連鎖を図３に示した。

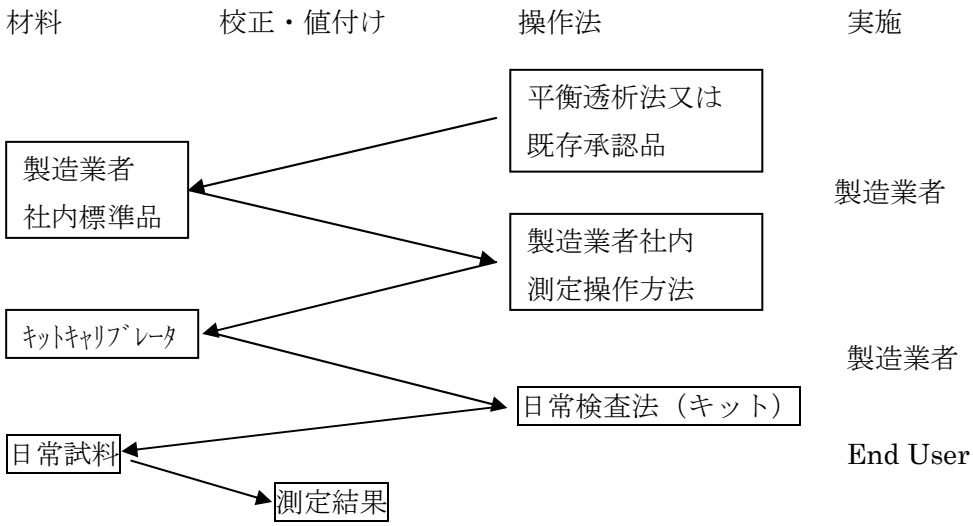
対象項目：FT3

報告企業	製品名	値付け法	補足情報
富士レビオ	ルミパルスⅠFT3 ルミパルスプレスト FT3	既承認試薬（RIA） を用いて値付け	---
東ソー	E テスト「TOSOH」II（FT3）	既承認試薬 を用いて値付け	平衡透析法準拠
オリンパス	名称未定	既承認試薬(予定)	---
ロシュ	エクルーシス試薬 FT3　II	平衡透析法	---
三菱化学ヤトロン	ＬＰＩＡ-Ｆ・ＦＴ$_3$テスト	既承認試薬（RIA） を用いて値付け	---
シスメックス	名称　未定	既承認試薬 を用いて値付け	---
三洋化成工業	ｽﾌｨｱﾗｲﾄ FT3-(S)（識別記号 B）	自社測定法	既承認試薬にて調整
オーソ	ビトロスフリーT3II	既承認試薬 を用いて値付け	---

対象項目:FT4

報告企業	製品名	値付け法	補足情報
富士レビオ	ルミパルスⅠFT4 ルミパルスプレスト FT4	既承認試薬（RIA） を用いて値付け	---
東ソー	E テスト「TOSOH」II（FT4）	既承認試薬 を用いて値付け	平衡透析法準拠
オリンパス	名称未定	既承認試薬（予定）	---
ロシュ	エクルーシス試薬 FT4	平衡透析法	---
三菱化学ヤトロン	LPIA-F・FT4 テスト	既承認試薬（RIA） を用いて値付け	---
シスメックス	名称　未定	平衡透析法	既承認試薬（RIA）
三洋化成工業	ｽﾌｨｱﾗｲﾄ FT4-(S)（識別記号 B）	自社測定法	既承認試薬にて調整
オーソ	ビトロスフリーT4	既承認試薬 を用いて値付け	---

図 3 FT4、FT3 のトレーサビリティ連鎖



４－３　キット差の要因について

キット差を生じる要因には、大きく分けて　使用する各社の値付けの設定方法と測定に伴うものの 2 つが上げられる。

４－３－１

現在､市販されている各社製品の値付けは､多くのものが先発の既存製品に基づいたものであり、一部、平衡透析法を使用したものになっている。これは国際標準品がないことが主な要因と考えられるが、FT3、FT4 濃度が　平衡関係の上に成り立つものであることも関係していると考えられる。更に　既存製品の値付けは、元を辿ればいずれも平衡透析法にたどり着くと考えられ、これらの事から、キット間差を生じさせる要因として、 一つに　使用した平衡透析法間差によるものが､更には、 既存製品からの値付け操作時に発生する誤差が考えられる。

４－３－２

次に、測定に伴い生じる誤差に、 アッセイ環境の影響がある。　FT3、FT4 濃度は、 試料中の T3、T4 が、甲状腺ホルモン結合タンパク（TBP）と結合したものと遊離したものとの平衡関係から生じた遊離した T3、T4 の状態を示したものであり、アッセイ条件には、この平衡関係を乱さないようにすることが求められる。

FT3、FT4 は、アッセイを開始し、測定試料が試薬と混合されることで、

①試料の希釈

②測定対象である FT3、FT4 と結合する抗体の添加

が生じる。

上記の①と②は、平衡関係を乱す要因となることが考えられる。

①において、試料が希釈されても　質量作用の法則により　遊離型ホルモンと結合型ホルモ

ンの平衡状態をできるだけ維持しようとするが、試料の希釈倍率が大きくなるにつれ本来の遊離ホルモン濃度が崩れる事が、報告されている。

②は、測定対象が非常に微量であり、測定感度を上げるために、できるだけ平衡状態を　維持しながら　FT3、FT4 のみならず、甲状腺ホルモン結合タンパク（TBP）と結合している T3、T4 の一部もアッセイ対象に加えた測定系になることが考えられ、添加する抗体により平衡関係を乱される可能性がある。

また、免疫反応を利用する測定品の多くには、試薬の安定化のために広くアルブミン等が使用されていると考えられるが、　FT3、FT4 測定製品においても、試薬に抗体以外の T3、T4 と結合する物質の添加が同様になされていると免疫反応を乱す要因となることが推測される。

以上、FT3、FT4 の標準化を進める為には、最適な値づけを行なう方法と市販製品の測定方法の両面にわたり、考慮が必要と言える。

４－４　標準化に向けた実行計画

標準化を進めるには４－３で述べた要因以外に、４－１の外部精度管理報告で見られたように、校正用標準品の作成には、注意しなければいけないことが示唆されているが、サーベイ時の試料がキット間差に関与した原因として次の事柄が考えられる。

乖離原因に、試料が人工的なものであることが上げられる。例えば多量の試料を準備するために　多くの血液検体がプールされその間、保存等で凍結融解されたと考える。また、保存のために安定剤が添加されているかもしれない。もし、そうであれば、凍結融解を繰り返す事で T3、T4 が結合するタンパクの部位が損傷を受け、本来結合していた T3 や T4 が遊離していくことが考えられる。つまり、本来のヒト血清（または、ヒト血漿）と異なるタンパク形態での平衡状態にある FT3、FT4 濃度をもった試料が作られる事になる。このことは、本来のヒト血清（または、ヒト血漿）を測定することを想定して作られた製品の機能が発揮できない恐れがあり、結果として　本来のヒト血清（または、ヒト血漿）測定時と異なるキット間差が発生することが予想される。この点を十分　考慮して初めて実行計画が成立するのではと考える。

昨年の 7 月 24 日の IFCC に参加された桑克彦先生の会議報告書によると、FT4 の標準化の為には“免疫法としての方法間差”、“試料の希釈によるひずみ”、“新鮮血清の使用”などへの配慮するべき事柄が同じく挙げられており、国内で更に標準化を進めるには、この IFCC の考えを活用していくことが適切と考えられた。

５．今後の課題

これまでに述べてきたように、 FT3、FT4 の標準化を進めるためには､他の免疫学的測定項目に上げられる事柄に加え、製品の構成試薬やアッセイ条件についても十分な配慮が必要と考えられ、この点の標準化をどう取り扱うのかも課題として意識しておく事が重要と考える。

６．結び

平成 18 年度の調査研究において　現行の製品に関する調査､並びにキット間差が生じる要因を確認した。

IFCC においては、FT3 の検討は行なわれていないが、FT4 の要因と重なる事が多く、同様の流れで実施する事は有効と判断され、今後　FT4、FT3 の標準化を進めるためには、これまでの結果を基に、IFCC に上げられる手法を参考にする事が、最も効果的で確実な標準化への道と考えられた。

２－４－２－１４　T4、T3

要旨

１）T4,T3 につき、各社測定試薬間の関係を調査した。

２）日本アイソトープ協会が実施している「イムノアッセイサーベイ」の結果によると、T4,T3 ともに測定試薬間で約 2 倍の差が報告されている。ワーキンググループ参加各社へのアンケート調査の結果においては、試薬キット間差は概ね±20%であり、試薬キット間差を認めるものの、「イムノアッセイサーベイ」調査結果と大きな隔たりであった。

３）このことより、実試料標準品を検討することによって、測定試薬キット間差を正しく把握し、かつ、試薬キット間差の是正に貢献できるもの、と考えられた。

１．目的

調査研究項目群、C6（TSH、T3、FT3、T4、FT4、Tg(サイログロブリン)）のうちの T4、T3 について、「各社測定試薬間の関係を把握すること及び校正用標準品の候補品について調査検討を行う」ことが本調査究の目的である。

２．委員会の構成

・アドバイザー	家入　蒼生夫（獨協医科大学臨床医学科臨床検査医学）
	小田桐　恵美（東京女子医科大学大学院医学研究科中央検査部）
	桑　克彦（筑波大学大学院人間総合科学研究科）
	森下　芳孝（三重大学医学部附属病院中央検査部）
・WG　C6 責任者	下川 洋太郎（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・運営管理者	吉田 雅之（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）
・T4 調査報告書担当	下川 洋太郎・吉田雅之（ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社）

・協力メーカー技術担当者（名簿順）

	会社名	技術担当者		T4/T3 該当メーカー
		（正）	（副）	
A	栄研化学（株）	阪崎伸一郎	小林　隆	---
B	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	滝本 徹男		○/○
C	オリンパス（株）	御子柴　浩		○/○
D	（株）コスミック コーポレーション	菊地 強		---
E	三洋化成工業（株）	誉田 大仁		○/○
F	シスメックス（株）	上野 哲男		---
G	デイド　ベーリング（株）	斉藤 憲祐		---
H	東ソー（株）	塚本 久雄		○/○
J	日本ビオメリュー（株）	赤野　恭子		○/○
L	富士レビオ（株）	村上　弘		---
M	ベックマン・コールター（株）	月本あつ子		○/○
N	（株）三菱化学ヤトロン	山岸 俊哉		---
O	ヤマサ醤油（株）	作田 俊隆	岩朝 勝啓	---
P	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ（株）	下川 洋太郎	吉田 雅之	○/○
Q	和光純薬工業（株）	山本 幸子		---

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/8（火）13：00～17：30　（臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/5（月）13：00～17：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/1/23（月）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/8/21（月）15：00～17：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/12/27（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第６回会合：2007/2/14（水）13：00～15：00　（臨薬協会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

①市販されている標準物質

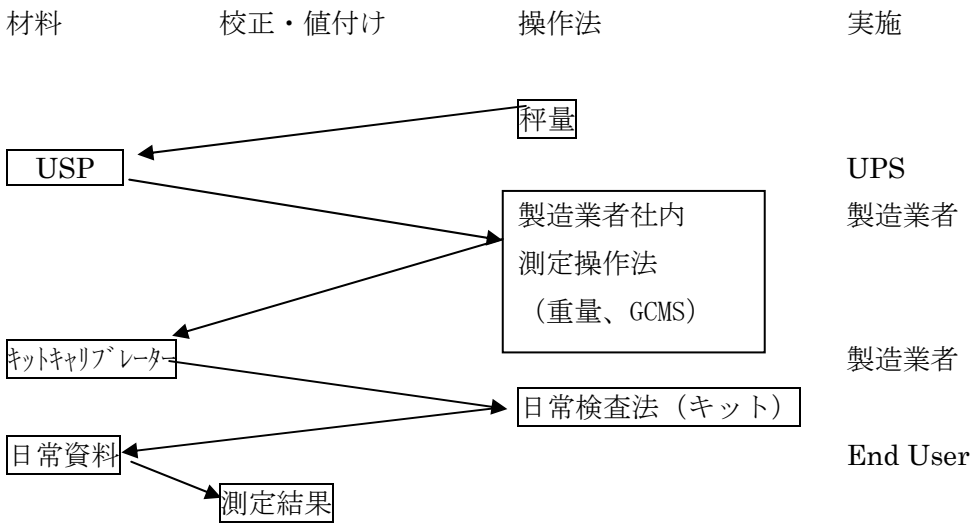
T4 の公的標準品として認知されている物質は、米国薬局方（USP）の標準品がある。その定量は、GC-MS や秤量による。

T3 も同様に、公的な標準品として認知されている物質は米国薬局方（USP）の標準品があり、その定量は、GC-MS や秤量が用いられている。

一方、T4、T3 ともに高純度で合成することが可能であり、それを GC-MS などにより秤量することが可能である。

各メーカーの値付けにおいては、公的標準品である USP を基準物質としているもの、合成品を利用しているものがあり、その物質の秤量にも、重量を測定したり、GC-MS により秤量を行なっていたり、と標準品、秤量とも様々な方法がとられているのが、実情である。

図１　T4,T3 のトレーサビリティ連鎖



②T4,T3 測定の実態調査

T4、T3 の国内での外部精度管理調査は、日本アイソトープ協会のイムノアッセイ検査全国コントロールサーベイで実施されている。市販コントロール血清を利用している。

T4 においては、2004 年　低値 1.23～2.63μg/dL　高値 14.60～20.84μg/dL、2005 年　低値 2.44～4.23μg/dL　高値　13.44～22.09μg/dL と、約 2 倍の差を示している。T3 においては、2004 年低値　0.25～0.66ng/mL　高値　2.11～3.19 ng/mL　2005 年　低値 0.44～1.03 ng/mL、高値 1.92～4.03 ng/mL と、T4 同様に 2 倍の開きを呈している。

T4：2004年

T4　（単位：μg/dL）

キット	試料B-1				試料B-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	1.74	±	0.24	13.5	16.15	±	0.51	3.1
	1.73	±	0.10	5.5	16.09	±	0.39	2.5
2	2.20	±	0.15	7.0	16.03	±	0.49	3.0
	2.16	±	0.08	3.6				
3	2.16	±	0.39	17.8	20.84	±	1.89	9.1
	2.06	±	0.24	11.6	20.34	±	1.25	6.1
4	2.31	±	0.58	25.1	18.19	±	1.21	6.6
5	1.60	±	0.10	6.3	17.27	±	1.60	9.3
6	1.84	±	0.34	18.4	17.75	±	2.19	12.3
7	1.21	±	0.01	0.9	17.85	±	0.07	0.4
8	2.63	±	0.23	8.9	16.97	±	0.47	2.8
9	1.67	±	0.19	11.4	17.95	±	1.20	6.7
10	1.80		-	-	14.60		-	-
11	2.51		-	-	18.86		-	-
12	1.23		-	-	16.66		-	-

（「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」を改変し作表）

T4：2005年

T4　（単位：μg/dL）

キット	試料D-1				試料D-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	2.89	±	0.17	5.8	17.74	±	0.35	2.0
	2.86		0.11	4.0	17.70	±	0.32	1.8
2	4.19	±	0.18	4.4	18.53	±	1.06	5.7
	4.19	±	0.11	2.7	18.36	±	0.90	4.9
3	4.23	±	0.16	3.8	21.74	±	1.30	6.0
					22.09	±	0.86	3.9
4	3.93	±	0.07	1.8	21.41	±	1.09	5.1
5	2.74	±	0.17	6.1	13.55	±	0.74	5.5
7	3.56	±	0.21	5.8	18.02	±	0.74	4.1
8	3.12	±	0.05	1.6	15.13	±	0.04	0.2
9	2.88	±	0.06	2.0	16.25	±	0.21	1.3
12	2.44		-	-	13.44		-	-
13	3.16		-	-	17.65		-	-

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

T3：2004年

	T3							（単位：ng/mL）
キット	試料B-1				試料B-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	0.25	±	0.04	14.8	3.19	±	0.16	5
	0.25	±	0.03	10.1	3.16	±	0.10	3.3
2	0.58	±	0.06	10.3	2.95	±	0.09	3.1
	0.57	±	0.05	8.3				
3	0.34	±	0.04	10.4	2.49	±	0.04	1.6
4	0.43	±	0.01	2.3	2.69	±	0.18	6.7
5	0.36	±	0.10	17.5	2.70	±	0.17	6.4
					2.66	±	0.10	3.8
6	0.28	±	0.05	17.4	2.22	±	0.10	4.5
7	0.35	±	0.05	15	2.97	±	0.29	9.8
8	0.67	±	0.04	6.3	2.11	±	0.15	7.1
9	0.47		-	-	2.32		-	-
10	0.20		-	-	2.50		-	-
11	0.66		-	-	2.43		-	-
12					3.05	±	0.12	3.9

（「第 26 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2004 年）成績報告書」を改変し作表）

T3：2005年

	T3							（単位：ng/mL）
キット	試料D-1				試料D-2			
	Mean	±	S.D.	C.V	Mean	±	S.D.	C.V
1	0.44	±	0.02	5.3	2.92	±	0.06	1.9
	0.44	±	0.02	4.7				
2	1.03	±	0.06	6.1	4.03	±	0.15	3.8
3	0.63	±	0.07	11.6	3.33	±	0.11	3.4
4	0.68	±	0.03	5.1	3.21	±	0.06	1.7
5	0.66	±	0.07	10.2	3.26	±	0.19	5.7
7	0.67	±	0.00	0	2.99	±	0.13	4.5
8	0.86	±	0.01	0.8	2.41	±	0.01	0.6
11	0.56		-	-	2.74		-	-
12	0.40		-	-	2.61		0.16	6.0
13	0.51		-	-	1.92		-	-

（「第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」を改変し作表）

相関データにおいては、各社の検討データより下記の如くである。

T4

報告企業	X軸キット	Y軸キット	相関係数	傾き	切片	例数	**濃度範囲** (μg/dL)
A	A-1	B-1	0.9552	0.8717	0.32	728	0.3 - 24.9
C	B-2	C-1	0.946	1.014	1.35	78	0.5 - 30.0
D	A-2	D-1	0.986	1.06	-0.666	122	0 - 25
D	A-1	D-1	0.991	1.079	0.957	101	0 - 25
E	B-2	E-1	0.937	0.761	0.55	94	0 - 25
F	**G-1**	**F-1**	0.961	0.913	1.21	119	0 - 25

T3

報告企業	X軸キット	Y軸キット	相関係数	傾き	切片	例数	**濃度範囲** (ng/mL)
A	A-1	B-1	0.9594	0.9815	0.16	485	0.10-7.8
C	B-2	C-1	0.988	0.932	0.05	83	0.1-8.0
D	A-2	D-1	0.987	0.916	0.178	103	0 - 6
D	A-1	D-1	0.992	0.848	0.098	103	0 - 6
E	B-2	E-1	0.969	0.808	0.29	98	0 - 8
F	**G-1**	**F-1**	0.953	0.828	0.356	120	0 - 6

４－３　キット間差の要因

先にも述べたが、各キットの値付けにおける基準物質、検量方法には統一された見解がなく、各社独自の値付けが行われている。統一した標準品の元にトレーサビリティ体系を取ることで、より各キット間の互換性は高まるものと考えられた。

５．今後の課題

今後、共通の標準品を設定し、それを元にしたトレーサビリティ体系を組むことで測定値の互換性が向上するかの確認試験を行うことが有効であると考える。

しかしながら、その設定濃度やマトリクスの影響などによる乖離の可能性も十分視野に入れ、検討を行う必要がある。

６．結び

平成 18 年度の調査研究において市販キットの互換性を確認した。T4,T3 は、これまでの結果を基に実試料標準物質候補品作成の有効性が高い項目であることが確認された。

２－４－２－１５　ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）

要旨

１）ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）の公的標準品は市販されているが、各社試薬の開発時期の違いなどにより、必ずしも同じ標準品にトレーサビリティがあるわけではない。　また各社の試薬が測定対象としている hCG はインタクト hCG、トータルβhCG（インタクト hCG + フリーβサブユニット）の違いがあり、測定値の乖離の要因となっている。

２）9 社 11 試薬を用いた hCG 測定値の実態調査では、各社試薬による測定値の全社平均に対する比率は 75～120%の範囲であり、変動係数（CV）は 13.3%であった。

３）市販されている標準物質や精製抗原との各社製品との試薬間の確認として 8 種類の評価用抗原希釈系列を調整し、これらを標準物質とし、各社試薬での補正する方法を試みたが、どの評価用抗原においても試薬間差を収束させることは出来なかった。　またベースによる影響を考慮し、抗原希釈液に緩衝液とヒト血清を用いたが、その差はわずかであった。

４）評価用実検体の中にフリーβサブユニットの存在が疑われるものが確認された。　またこれらの検体への反応性の相違から、測定試薬は２つのグループに分けられた。

５）さらに標準化を進めるためには、各社の試薬が測定する HCG がどのタイプなのかを区別することと、乖離の原因となるフリーβサブユニットの影響が少ない妊婦由来の検体だけを用いた方が容易に解析できると考えられた。

１．目的

本調査研究項目群、Ｃ７ヒト絨毛性ゴナドトロピン（hCG）について、「各社測定試薬間の関係を把握すること及び校正用標準品の候補品を調整・使用し、各社試薬の測定値の収束性について検証を行う」ことが本調査研究の目的である。

２．委員会の構成

	氏名	所属
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	小田切　恵美	東京女子医科大学
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学医学部附属病院
責任者	保田　徹	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
運営管理者	大西　純	株式会社テイエフビー
実行計画作成者	上野　貴久	日水製薬株式会社
技術担当者	土屋　渉	あすか製薬株式会社
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社

	氏名	所属
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ･ｸﾘﾆｶﾙ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	古澤　幸弘	オリンパス株式会社
技術担当者	斉藤　憲祐	デイド・ベーリング株式会社
技術担当者	塚本　久雄	東ソー株式会社
技術担当者	上野　貴久	日水製薬株式会社
技術担当者	赤野　恭子	日本ビオメリュー株式会社
技術担当者	中城　周二	富士レビオ株式会社
技術担当者	伊東　理絵	ベックマン・コールター株式会社
技術担当者	松本　幹雄	ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
技術担当者	大西　純	株式会社テイエフビー

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/9（水）14：00～17：00　（臨薬協会議室）
第２回会合：2005/12/2（金）13：00～16：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/1/12（木）10：00～12：30　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/5/17（水）14：00～16：30　（臨薬協会議室）
第５回会合：2007/2/16（金）15：00～17：00　（臨薬協会議室）

４．調査研究の概要

（１）測定値の互換性の現状

１）現状の調査

①市販されている標準物質等

hCG の公的標準品は WHO 4th IS（＝NIBSC（75/589））のみで、これは WHO 3rd IS(＝NIBSC(75/537))と同じものの 2 番目のバッチである。　これに準ずる抗原として WHO 1st RR (=NIBSC　(99/688))などが入手可能である。　NIBSC(99/688)は 2001 年に WHO　1st　RR として位置づけられ、現在は WHO　IS の候補品として評価中である。　市販されている抗原も妊婦尿由来の精製抗原やリコンビナント抗原などがある。

②hCG 測定試薬の実態調査

参加企業にアンケート調査を実施した結果、測定対象となる hCG にはインタクト hCG、トータルβhCG、フリーβサブユニットの 3 種類が存在することが確認された。上位標準物質としてＷＨＯ　3rd IS 75/537 を使用している試薬は７件、ＷＨＯ　4th IS 75/589 を使用している試薬は４件であった。　１社を除いて血清または血漿検体測定用試薬を上市していたので、今回の調査は血清検体に限定して行なうこととした。　フリーβサブユニットについては 2 社の製品のみで、測定値はよく一致しているため、今回の調査実験からは除外した。

ＨＣＧ測定試薬調査結果

メーカー名	測定対象			上位標準物質	測定検体	
	インタクトHCG	トータルβHCG	フリーβサブユニット		血清/血漿	尿
あすか製薬	○			4th IS 75/589		○
栄研化学	○			3rd IS 75/537	○	○
オーソ		○		3rd IS 75/537	○	
デイド･ベーリング		○		3rd IS 75/537	○	
東ソー	○			3rd IS 75/537	○	○
東ソー		○		3rd IS 75/537	○	
日水製薬	○			4th IS 75/589	○	○
ビオメリュー	○			3rd IS 75/537	○	○
ベックマン･コールター		○		3rd IS 75/537	○	
ロシュ	○			4th IS 75/589	○	○
ロシュ		○		4th IS 75/589	○	
テイエフビー	○			3rd IS 75/537	○	○
シェーリング			○		○	○
三菱化学ヤトロン			○		○	

２）現状把握の為の実験

各社試薬による hCG 測定の実態を把握するため、実検体を用いた調査実験を実施した。また各種の評価用抗原を用いた標準化の可能性に関する調査実験を同時に実施した。　（資料１）

この実験は、hCG の濃度域を 5 段階に分け（区分 A～E)、区分ごとに正常妊婦由来検体 4～7 例、腫瘍由来検体 3 例、総合計 41 例の血清試料を各社の試薬で測定し、その結果の比較より各試薬間の測定値差の実態を調査するものである。　なお正常妊婦検体は慶応義塾大学病院より、腫瘍由来検体はがんセンター中央病院より供与されたものを使用した。　また４種類の hCG 抗原（①NIBSC　（75/589）ヒト尿由来、②NIBSC（99/688）ヒト由来、③BiosPacific 社製 Native hCG、④ProSpec TechnoGene 社製リコンビナント hCG）を用いて 2 種類のベース（緩衝液、ヒト血清）で調整した 8 種類の評価用抗原を同時に測定し、これらの評価用抗原で補正することにより測定値の収束が図れるかどうか評価する。さらに妊婦由来検体、および腫瘍由来検体の測定値で補正することにより測定値の収束が図れるかどうかも合わせて評価するものである。　なお緩衝液は 50mM トリス塩酸緩衝液、150mM　NaCl、0.5%BSA、pH=7.4、ヒト血清はヘクテフ製の脱脂男性ヒト血清 Lot601M を使用した。

調査実験には以下の 9 社 11 試薬が参加して行なわれた。

参加メーカー名一覧

メーカー名
あすか製薬
栄研化学
オーソ
東ソー（2種類）
日水製薬
ビオメリュー
ベックマン･コールター
ロシュ（2種類）
テイエフビー

ただし試薬Aは尿検体測定用であるため、標準品の評価のみ参加し、実検体の測定には参加しなかった。 また試薬Bは高濃度域を測定する試薬であるため、低濃度域の評価からは除外した。

3）実験結果

① 各試薬間の相関(全検体)

各試薬の実検体の測定結果について、実検体ごとに測定値の平均値を求め、これを基準として各試薬との相関性を求めた。各試薬との相関性は相関係数の二乗（R^2）が 0.9952 以上と各試薬とも良好であった（資料２）。

② 各試薬間の相関(区分 A～D)

区分 E（理論濃度 1000～10000mIU/mL）の実検体の多くは希釈して測定されているため、区分 A～D における測定値の平均値を求め、各試薬との相関性を求めた（資料３）。各試薬との相関性は相関係数の二乗（R^2）が 0.963 から 1.0 となり、相対的に低濃度域における相関性が悪いことが明らかとなった。

③ 低濃度域の相関性の精査

全社平均値に対する各試薬測定値のバイアスを調べたところ、区分 A および区分 B でバイアス幅が 100%を超える検体が散見され、そのすべてが腫瘍由来の検体であることが分かった（資料４）。そこで、インタクト hCG を測定する試薬 E とインタクト hCG とフリーβサブユニットを合せて測定する試薬 F の測定値を比較したところ、5 例の乖離例が抽出され、（資料５）、乖離の原因は、検体中のフリーβサブユニットによる影響であることが強く疑われた。なお、試薬 F と同様の傾向は試薬 C、試薬 I、試薬 K にも認められたため（資料６）、腫瘍由来の検体による測定値の標準化は困難であると判断し、以降の解析には、妊婦検体の測定値のみを利用した。

④ 評価用抗原による測定値の補正

次に 8 種類の評価用抗原について実用標準品としての性能を評価した（資料７）。各評価用抗原系列は各試薬において良好な希釈直線性を示したため（資料８）、各評価用抗原の理論値に対する比を用いて妊婦検体測定値の補正を試みた。補正係数は、各試薬に共通して無希釈にて測定可能な各系列のレベル１～７（250mIU/mL 以下）における理論濃度に対する測定値の相関式より求め、評価は、各検体ごとの試薬間の変動係数(CV)を検体間で平均して算出した妊婦

検体の平均 CV により行った。その結果、補正後の妊婦検体の平均 CV は 17～31%と補正前の 15.7%よりも大きくなり、収束傾向を示した評価用抗原は認められなかった。

⑤　パネル血清による補正

次に妊婦検体の中から系列１～８の理論濃度に近い検体を 6 検体選び、これを系列９として同様に補正係数を求め、測定値の補正を試みた。その結果、妊婦検体の平均 CV は 9.3%と改善傾向が認められた。

上記の④、⑤の結果を下表にまとめた。また、検体別の CV は資料９に示した。

表．各系列の補正係数と補正効果

評価用抗原系列	補正係数										妊婦検体の平均CV(%)
	B	C	E	F	G	H	I	J	K	L	
系列1．NIBSC(75/589)緩衝液	0.86	0.92	0.91	0.95	0.88	0.85	0.97	1.42	1.30	1.33	20.4
系列2．NIBSC(75/589)ヒト血清	0.86	0.77	0.80	0.81	0.98	0.92	0.97	1.14	1.07	1.53	17.0
系列3．NIBSC(99/688)緩衝液	0.94	0.77	0.66	0.68	0.81	0.72	1.05	1.10	1.15	1.65	26.5
系列4．NIBSC(99/688)ヒト血清	0.96	0.72	0.70	0.72	0.78	0.70	1.07	0.96	1.07	1.93	30.4
系列5．Native　HCG緩衝液	0.83	0.60	0.59	0.53	0.71	0.62	0.90	1.07	0.94	1.57	30.2
系列6．Native　HCGヒト血清	0.81	0.56	0.68	0.72	0.67	0.65	0.89	0.93	0.82	1.81	31.0
系列7．ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄHCG緩衝液	0.18	0.18	0.15	0.16	0.18	0.19	0.22	0.22	0.28	0.31	22.2
系列8．ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄHCGヒト血清	0.19	0.20	0.21	0.22	0.20	0.24	0.31	0.26	0.31	0.48	27.4
系列9．パネル血清系列		1.06	0.89	0.88	1.06	1.04	0.88	1.08	0.97	1.27	9.3
補正なし											15.7

４）考察

現状認識のため、各社試薬により同一検体を測定したところ、その値は全社平均に対し 75～120%と広範囲に分布し､国内の各試薬の測定値は収束しているとは言い難い状態であることがわかった。しかし、各試薬間の相関係数は良好であるため、補正によりある程度の収束は可能と思われた。

一部に乖離検体が認められた。原因として、各試薬のフリーβサブユニットに対する反応性の差異が影響していることが推察された。すなわち今回調査に参加した試薬を含め、市場にはフリーβサブユニットとの反応性が高い試薬と､インタクト hCG とのみ反応する試薬が混在していること、さらに実検体にもフリーβサブユニットを含む検体とそうでない検体とが混在していることが、乖離例を生じる原因と考えられた。

そこで、フリーβサブユニットを含まない、もしくは含まれても極わずかと推定される妊婦検体に対象を限定し、国際標準品を含む８種類の評価用抗原による標準化を模索したが、検体測定値を収束させる抗原は認められなかった。なお、ベースによる影響を考慮し、抗原希釈液にヒト血清と緩衝液を用いたが、その差はわずかであった。

さらに、妊婦検体より数例の検体を抽出し、その測定値を元に測定値を補正したところ、変動係数(CV)は 15.7%から 9.3%に改善し、収束傾向を認めた。したがって、標準化にはパネル検体の使用が有用と思われた。

５．今後の課題

パネル検体による測定値の補正が有用であるとの示唆が得られたが、パネル検体の使用には、①検体選定方法の規格化、②量的確保、③保存条件の確立、等課題も多い。また試薬間のフリーβサブユニットへの反応性の差異も大きく影響する。さらに、各社試薬の測定レンジに差が大きく、全ての hCG 測定試薬の標準化を目指す場合に、希釈の影響、測定感度の差など別の要因が大きく影響することが考えられる。したがって、今後標準化にあたっては、各試薬の状況を鑑み慎重に方法を選択すべきと考える。

６．結び

平成 18 年度の調査研究において、hCG 測定値の実態が明確となった。　また評価用抗原系列を用いて各社試薬の測定値を標準化することは困難であることが判明した。標準化にはパネル検体の使用が有用と思われるが課題も多い。　なお、標準化を妨げる要因としてフリーβサブユニットの存在が考えられるので、フリーβサブユニットに対する反応性がある試薬とない試薬を区別すること、また実検体を収集する際にも、フリーβサブユニットを含む検体、含まない検体を分ける必要があると考えられた。

７．謝辞

今回の検討に使用しました試料の分析や提供および種々のご助言を戴きました慶應義塾大学病院検査部　村田　満先生、国立がんセンター中央病院病院長土屋了介先生および臨床検査部吉田耕先生に深謝いたします。

添付資料一覧

資料１　　実行計画書
資料２　　実検体相関（全社平均値に対する相関、区分 A～E）
資料３　　実検体相関（全社平均値に対する相関、区分 A～D）
資料４　　全社平均値に対するバイアス
資料５　　インタクト hCG とトータルβhCG との相関（試薬Ｅと試薬Ｆ）
資料６　　実検体相関（インタクト、トータルβ別）
資料７　　評価用抗原の測定値
資料８　　評価用抗原別各社相関（対理論値）
資料９　　各系列の補正効果（検体別ＣＶ％）

添付資料１　実行計画書

JCCLS標準化基本検討委員会　柱１
ワーキンググループ　Ｃ７
実行計画書

2006.2.27

作成：実行計画書作成担当
日水製薬株式会社　上野

Index

標準化実行計画書作成から報告書作成までの全体フロー図 ‥‥‥ 1

標準化WGにおける作業内容 ‥‥‥ 2

検体調製手順 ‥‥‥ 3

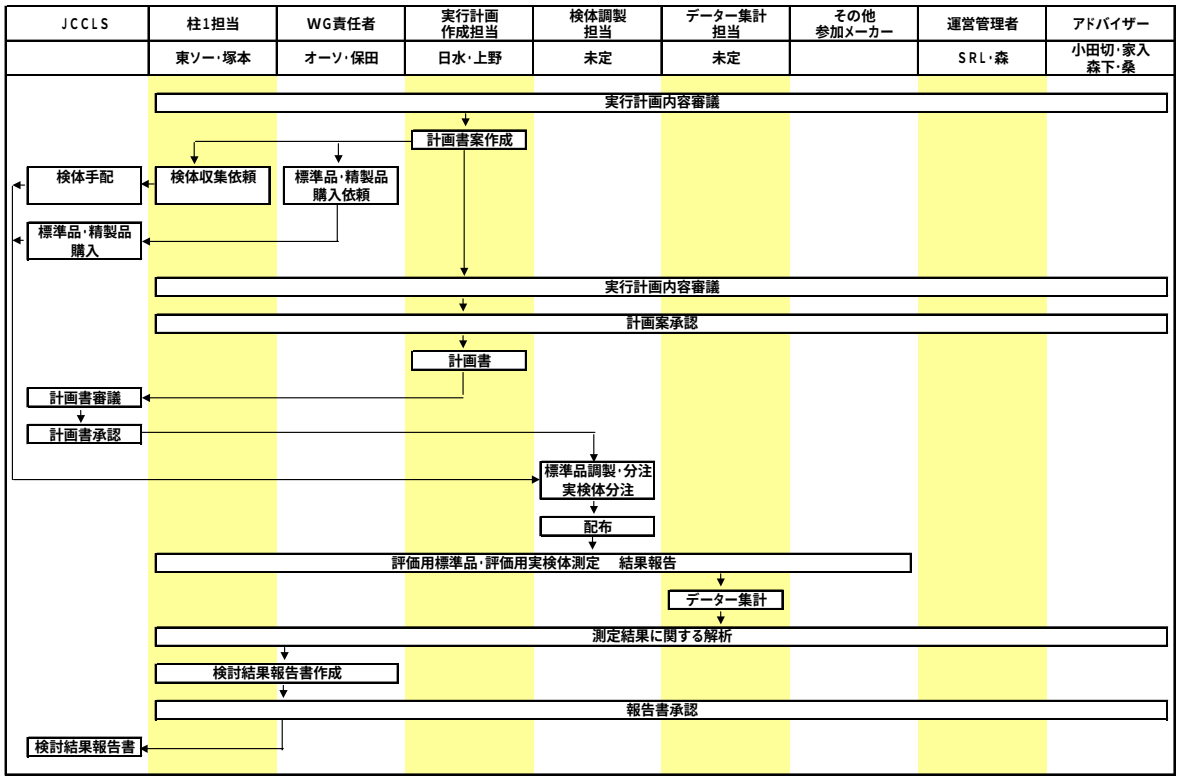
検体測定手順 ‥‥‥ 5

評価用検体測定結果報告書 ‥‥‥ 6

データー解析手順 ‥‥‥ 9

[備考] 試薬、評価用検体、原料必要量計算書 ‥‥‥ 10

標準化:実行計画書作成から報告書作成までの全体フロー図



標準化WGにおける作業内容(分類2)

分類2　;①-B

2006.2.27修正

WGで発生すると予想される作業	備考
●第一段階：標準化案(1)、(2)についての検討	
(1) 公的な標準品の入手 公的な標準品が複数存在する場合、文献調査等によって最も適切と考えられるものを選定する。 ・WGに参加しているメーカーの数だけ購入、または高濃度品であれば少量を希釈調製して分配する。	NIBSC code: 75/589　　650 IU/ampoule NIBSC code: 99/688　　800 IU/ampoule
(2) 精製物質の入手 ・添加用の精製物質として適切なものを選定する。 ・必要量を購入。	**BiosPacific HCG Antigen, High Purity [Product number : J13100126]** **ProSpec-Tany TechnoGene Recombinant HCG [Cat.number : HCR-267]**
(3) 試作標準品(a)の作成 ・公的標準品を各社の現行のベースに添加し、最上位の標準品を作成する。理論濃度を表示値とする。 ・これを基準に、各社の現行の1次標準品または商品標準品の濃度を再設定したものを、試作標準品(a)とする。	実行不可能-中止
(4) 試作標準品(b)の作成 ・精製物質(WG推奨品)を各社の現行のベースに添加し、試作標準品(b)を作成する。 ・(3)で作成した最上位の標準品を基準として、試作標準品(b)の表示値を設定する。	実行不可能-中止
(5) 評価用実検体の準備 ・調査用の実検体の入手(WG参加メーカー分)、濃度レベルごとに実検体をプールして、30例を作成。 (WGの中で作業担当メーカーを選任する。)	2-20IU/mL　　:10検体 20-100IU/mL　　:10検体　　(内訳) 100-400IU/mL　　:10検体　　HCG正常妊娠例　7検体 400-1000IU/mL　　:10検体　　妊娠以外HCG高値検体　3検体 1000-10000IU/mL　:10検体
(5) 評価用標準品の準備 ・公的な標準品、及び添加用精製物質を緩衝液、及びヒト血清に添加した評価サンプルを作成する。	75/589-緩衝液ベース 75/589-ヒト血清ベース 99-688-緩衝液ベース 99-688-ヒト血清ベース　　:それぞれ理論値0、8、16、31、62.5、125、250、500、 nativeHCG/緩衝液ベース　　1000、2000、4000、8000、16000mIU/mLを調製 nativeHCG/ヒト血清ベース recombinantHCG/緩衝液ベース recombinantHCG/ヒト血清ベース
(6) 各社キットでの測定 ・各メーカー標準品でそれぞれ検量線を作成し、(5),(5)の評価サンプルを測定する。 ・試薬ロットは基本的には1ロット(調査研究が目的のため)。ただし、メーカーの判断でロットを増やすことは歓迎。	公的標準品、精製物質添加サンプル、評価用実検体の測定回数は、各メーカーで判断する。 測定レンジ外の高濃度サンプルは、希釈して測定する。
(7) 結果集計 ・測定された値を各メーカー間で比較する。 (WGで集計担当者を選任する。)	各メーカー標準品を使用したときの公的標準品、精製物質添加サンプル、評価用実検体の測定値間差を比較する。 それ以外のデーター解析方法については、ワーキンググループで協議して決定する。

2006.1.30作成

検 体 調 製 手 順

1. 標準品、精製品購入

公的標準品	購入量
NIBSC code: 75/589 [650 IU/ampoule]	4本
NIBSC code: 99/688 [800IU/ampoule]	4本

精製品	購入量
BiosPacific HCG Antigen, High Purity [Product number : J13100128]	1mg
ProSpec-Tany TechnoGene Recombinant HCG [Cat.number : HOR-267]	1mg

2. 資材の準備

1mL分注可能な凍結保存容器	評価サンプル分	1280本	
	評価サンプル予備分	416本	
	実検体分	800本	
	実検体予備分	200本	計 2696本

(例:アシスト製凍結保存チューブ 品番:72.694.007S 500本入 25000円)

フリーズボックス (100穴用)	評価サンプル分	17箱	
	評価サンプル予備分	8箱	
	実検体分	12箱	
	実検体予備分	2箱	計 39箱

(例:アシスト製フリーズボックス 品番:95.100A 100穴用 20箱入 17000円)

3. 希釈用緩衝液の準備

組成: 50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、0.5% BSA、pH7.4

調製方法
2-アミノ-2-ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール (Tris) 6.057gを精製水約0.8Lに溶解する
塩化ナトリウム 8.766gを溶解する
塩酸を適量添加して、pHを7.4に調整する
液の回転を停止し、BSA 5gを液面に乗せて溶解する
溶液を1Lにメスアップする
pHを確認する (7.4±0.1)
(尚、Tris,塩化ナトリウム、BSAのメーカー、グレードは調製メーカーに一任とする)

4. ヒト血清の準備

		必要量
購入依頼	脱脂処理ヒト正常血清 (HCGフリー)	1L
又は		
入手依頼	HECTEF脱脂血清	1L

5. 評価用標準品の調製

上記標準品・精製品を希釈用緩衝液、又はヒト血清で倍々希釈して以下の評価用標準品を調製する

	標準品・精製品	希釈液
系列1	NIBSC 75/589	緩衝液
系列2	NIBSC 75/589	ヒト血清
系列3	NIBSC 99/688	緩衝液
系列4	NIBSC 99/688	ヒト血清

	標準品・精製品	希釈液
系列5	nativeHCG	緩衝液
系列6	nativeHCG	ヒト血清
系列7	recombinantHCG	緩衝液
系列8	recombinantHCG	ヒト血清

濃度	16000	8000	4000	2000	1000	500	250	125	63	31	16	8	0 [mIU/mL]
標準品・精製品	適量	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	0 [mL]
希釈液	適量	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20 [mL]

希釈系列の濃度は、使用した原料の表示値の値を採用する
希釈は、各溶液の比重を考慮して重量で実施することが望ましいが、困難の場合は容量で実施しても良い

6. 評価用標準品の分注

凍結保存容器にラベルをはる
調製したサンプルを凍結保存容器に1mLづつ分注する

ラベル例: NIBSC 75/589 / 16000mIU/mL / Lot.xxxxxx

最低必要本数

	16000	8000	4000	2000	1000	500	250	125	63	31	16	8	0
あすか製薬				2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
オーソ				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
オリンパス				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
デイドベーリング				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
東ソー				2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
日水製薬				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
日本ピオメリュー				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
富士レビオ				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ベックマン				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
SRL				1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ロシュ	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
栄研化学	2	2	2	2	2	2							2
計	4	4	4	16	16	16	14	14	14	14	14	14	16
分注本数	8	8	8	20	20	20	18	18	18	18	18	18	20

＊あすか製薬、東ソー、ロシュ社は、各メーカー2試薬分、栄研化学は使用量が多いために1試薬分で2本必要
分注本数は、各濃度ごとに最低必要本数＋予備分4本とし、残った液は別途適当な容器で保存する

7. 評価用実検体の準備

以下の種別の検体各40mL分をLCCLSに依頼し、入手する

	HCG正常妊娠例[注1)]	HCG高値検体[注2)]
2-20mIU/mL	7検体	3検体
20-100mIU/mL	7検体	3検体
100-400mIU/mL	7検体	3検体
400-1000mIU/mL	7検体	3検体
1000-10000mIU/mL	7検体	3検体

HCG正常妊娠例[注1)] ： 絨毛癌、胞状奇胎は除外
HCG高値検体[注2)] ： 妊娠以外の絨毛性疾患、HCG産生腫瘍など（男性、女性別にプールされたもの）

8. 評価用実検体の分注

凍結保存容器にラベルをはる
実検体を凍結保存容器に1mLづつ分注する

最低必要本数

あすか製薬	2
オーソ	1
オリンパス	1
デイドベーリング	1
東ソー	2
日水製薬	1
日本ピオメリュー	1
富士レビオ	1
ベックマン	1
SRL	1
ロシュ	2
栄研化学	2
計	16 本

分注本数 20 本
（分注本数は、最低必要本数＋予備分4本とし、残った液は別途適当な容器で保存する）

9. 評価用標準品、評価用実検体の保存、発送

分注の終了した評価用標準品、評価用実検体は、各メーカーごとにフリーズボックスに入れて、－80℃で保存する
予備分の評価用標準品、評価用実検体、及び分注残も－80℃で保存する
評価用標準品、評価用実検体を発送する場合は、ドライアイスを手配して、凍結状態で発送する

2006.1.30作成
2007.1.18追記

検 体 測 定 手 順

1. 測定検体一覧

評価用標準品 ： 以下の系列の各希釈段階の評価用標準品を測定する

	標準品･精製品	希釈液
系列1	NIBSC 75/589	緩衝液
系列2	NIBSC 75/589	ﾋﾄ血清
系列3	NIBSC 99/688	緩衝液
系列4	NIBSC 99/688	ﾋﾄ血清

	標準品･精製品	希釈液
系列5	nativeHCG	緩衝液
系列6	nativeHCG	ﾋﾄ血清
系列7	recombinantHCG	緩衝液
系列8	recombinantHCG	ﾋﾄ血清

	各系列の希釈段階[mIU/mL]												
	16000	8000	4000	2000	1000	500	250	125	63	31	16	8	0
あすか製薬				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
オーソ				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
オリンパス				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
デイドベーリング				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
東ソー				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
日水製薬				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
富士レビオ				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ベックマン				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
SRL				○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
ロシュ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
栄研化学	○	○	○	○	○	○							○

評価用実検体 ： 以下の評価用実検体を測定する

	HCG正常妊娠例[注1)]	HCG高値検体[注2)]
2-20mIU/mL	7検体（4検体）	3検体
20-100mIU/mL	7検体（5検体）	3検体
100-400mIU/mL	7検体（5検体）	3検体
400-1000mIU/mL	7検体（5検体）	3検体
1000-10000mIU/mL	7検体	3検体

注意；最終的に十分な検体が入手できなかったため、検体数が少なくなっています。

2. 試薬、標準品、測定機器の準備

試薬　　：以下の試薬数量を準備する

栄研化学　　106ﾃｽﾄ＋α
ロシュ　　154ﾃｽﾄ＋α
それ以外のメーカー　　130ﾃｽﾄ＋α

ﾃｽﾄ数は、各評価用検体を1重測定した場合の試薬数を示している
測定回数は、各ﾒｰｶｰで独自に決定する（検体は、3重測定可能な量が配布される）

α：較正に使用する試薬数＋多重測定の場合は測定回数にあわせて準備する

標準品　　：較正に必要な標準品を準備する

測定機器　　：測定に分析機を使用する場合は、必要な台数を準備する

3. 測定方法

以下の操作に従って測定を実施する
配布された検体を室温で融解し、良く転倒混和する
それぞれの試薬にあわせて、添付文書等に従って較正を実施する
測定濃度以外にｵﾘｼﾞﾅﾙの信号値が得られるように、測定機器をｾｯﾄする
評価用標準品、評価用実検体を測定する
測定回数は、各ﾒｰｶｰが判断する

4. 結果報告

別紙、結果報告書に測定結果を記入し、データー解析担当者に連絡する
報告する測定結果は、各ﾒｰｶｰによって平均値、中央値等を判断して代表値を報告する

JCCLS標準化基本検討委員会 柱1 ワーキンググループ C7
評価用検体測定結果報告書

会社名 　　担当者

試薬名

測定原理

EIA (酵素免疫測定法)	□
FIA (蛍光免疫測定法)	□
LAT (ラテックス比濁法)	□
CLIA (化学発光免疫測定法)	□
その他	□

測定機器

測定単位

ｵﾘｼﾞﾅﾙﾃﾞｰﾀｰの単位

検体希釈液

較正結果

標準品	表示値	ｵﾘｼﾞﾅﾙﾃﾞｰﾀｰ
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		

多重測定した場合の測定結果は、各メーカーによって平均値、中央値等を判断して代表値を記入してください。

評価用検体測定結果

No.	検体	測定結果	ｵﾘｼﾞﾅﾙﾃﾞｰﾀｰ	希釈の有無	希釈倍数	その他
1	系列1 0[mIU/mL]			□有 □無		
2	8			□有 □無		
3	16			□有 □無		
4	31			□有 □無		
5	63			□有 □無		
6	125			□有 □無		
7	250			□有 □無		
8	500			□有 □無		
9	1000			□有 □無		
10	2000			□有 □無		
11	4000			□有 □無		
12	8000			□有 □無		
13	16000			□有 □無		
14	系列2 0[mIU/mL]			□有 □無		
15	8			□有 □無		
16	16			□有 □無		
17	31			□有 □無		
18	63			□有 □無		
19	125			□有 □無		
20	250			□有 □無		
21	500			□有 □無		
22	1000			□有 □無		
23	2000			□有 □無		
24	4000			□有 □無		
25	8000			□有 □無		
26	16000			□有 □無		

No.	検体		測定結果	ｵﾘｼﾞﾅﾙﾃﾞｰﾀｰ	希釈の有無	希釈倍数	その他
27	系列3	0[mIU/mL]			□有 □無		
28		8			□有 □無		
29		16			□有 □無		
30		31			□有 □無		
31		63			□有 □無		
32		125			□有 □無		
33		250			□有 □無		
34		500			□有 □無		
35		1000			□有 □無		
36		2000			□有 □無		
37		4000			□有 □無		
38		8000			□有 □無		
39		16000			□有 □無		
40	系列4	0[mIU/mL]			□有 □無		
41		8			□有 □無		
42		16			□有 □無		
43		31			□有 □無		
44		63			□有 □無		
45		125			□有 □無		
46		250			□有 □無		
47		500			□有 □無		
48		1000			□有 □無		
49		2000			□有 □無		
50		4000			□有 □無		
51		8000			□有 □無		
52		16000			□有 □無		
53	系列5	0[mIU/mL]			□有 □無		
54		8			□有 □無		
55		16			□有 □無		
56		31			□有 □無		
57		63			□有 □無		
58		125			□有 □無		
59		250			□有 □無		
60		500			□有 □無		
61		1000			□有 □無		
62		2000			□有 □無		
63		4000			□有 □無		
64		8000			□有 □無		
65		16000			□有 □無		
66	系列6	0[mIU/mL]			□有 □無		
67		8			□有 □無		
68		16			□有 □無		
69		31			□有 □無		
70		63			□有 □無		
71		125			□有 □無		
72		250			□有 □無		
73		500			□有 □無		
74		1000			□有 □無		
75		2000			□有 □無		
76		4000			□有 □無		
77		8000			□有 □無		
78		16000			□有 □無		
79	系列7	0[mIU/mL]			□有 □無		
80		8			□有 □無		
81		16			□有 □無		
82		31			□有 □無		
83		63			□有 □無		
84		125			□有 □無		
85		250			□有 □無		
86		500			□有 □無		
87		1000			□有 □無		
88		2000			□有 □無		
89		4000			□有 □無		
90		8000			□有 □無		
91		16000			□有 □無		

No.	検体	測定結果	ｵﾘｼﾞﾅﾙﾃﾞｰﾀｰ	希釈の有無	希釈倍数	その他
92	系列8　0[mIU/mL]			□有 □無		
93	8			□有 □無		
94	16			□有 □無		
95	31			□有 □無		
96	63			□有 □無		
97	125			□有 □無		
98	250			□有 □無		
99	500			□有 □無		
100	1000			□有 □無		
101	2000			□有 □無		
102	4000			□有 □無		
103	8000			□有 □無		
104	16000			□有 □無		
105	実検体　1			□有 □無		
106	2			□有 □無		
107	3			□有 □無		
108	4			□有 □無		
109	5			□有 □無		
110	6			□有 □無		
111	7			□有 □無		
112	8			□有 □無		
113	9			□有 □無		
114	10			□有 □無		
115	11			□有 □無		
116	12			□有 □無		
117	13			□有 □無		
118	14			□有 □無		
119	15			□有 □無		
120	16			□有 □無		
121	17			□有 □無		
122	18			□有 □無		
123	19			□有 □無		
124	20			□有 □無		
125	21			□有 □無		
126	22			□有 □無		
127	23			□有 □無		
128	24			□有 □無		
129	25			□有 □無		
130	26			□有 □無		
131	27			□有 □無		
132	28			□有 □無		
133	29			□有 □無		
134	30			□有 □無		
135	31			□有 □無		
136	32			□有 □無		
137	33			□有 □無		
138	34			□有 □無		
139	35			□有 □無		
140	36			□有 □無		
141	37			□有 □無		
142	38			□有 □無		
143	39			□有 □無		
144	40			□有 □無		
145	41			□有 □無		
146	42			□有 □無		
147	43			□有 □無		
148	44			□有 □無		
149	45			□有 □無		
150	46			□有 □無		
151	47			□有 □無		
152	48			□有 □無		
153	49			□有 □無		
154	50			□有 □無		

2006.2.27修正

データー評価手順

1. 各メーカーより検体測定結果を入手する

2. 比較対照法の決定

相関性を評価するための比較対照法（キット）を決定する

比較対照法（キット）は、評価用標準品　系列1（標準品：NIBSC　75/589、希釈液：緩衝液）　表示値125mIU/mL

（測定結果報告書　検体No.7)の測定結果が最も表示値に近い結果のキットとする

3. 一次評価

評価に使用する測定結果は、各キット推奨の標準品で校正した検量線から算出された評価用標準品、評価用実検体とする

データー集計担当者は以下の相関図を作成する

- 比較対照法の測定結果をx軸として、それぞれのキットの測定結果をy軸にプロットする
- ひとつの相関図に、全ての評価用標準品、及び評価用実検体をプロットする
- 8系列の評価用標準品、及び評価用実検体は、それぞれ別々のマークを選択し、識別可能となるようにする
- 測定の際に希釈して測定したものについては、直接測定したものと判別可能なように工夫してプロットする

4. 集計、協議

データー集計担当者は、得られた評価結果を集計する

集計したデーターをもとにワーキンググループで討議して、解析の内容を決定する

5. 二次評価

ワーキンググループでの決定事項にしたがって、解析を行う

6. 報告

得られた解析結果を検討結果報告書作成者に報告する

[備考] 試薬、評価用検体、原料必要量計算書

必要な試薬数

試薬メーカー　　：あすか製薬、オーソ、オリンパス、デイドベーリング、東ソー、日水製薬、日本ビオメリュー、富士レビオ、SRL

評価サンプル		濃度段階	n数	測定回数	テスト数
公的標準品	75/589-緩衝液ベース	0、8、16、31、63、125、250、500、1000、2000mIU/mL	10	>1	>10
	75/589-ヒト血清ベース	〃	10	>1	>10
	99-688-緩衝液ベース	〃	10	>1	>10
	99-688-ヒト血清ベース	〃	10	>1	>10
精製物質	nativeHCG/緩衝液ベース	〃	10	>1	>10
	nativeHCG/ヒト血清ベース	〃	10	>1	>10
	recombinantHCG/緩衝液ベース	〃	10	>1	>10
	recombinantHCG/ヒト血清ベース	〃	10	>1	>10
実検体		2-20IU/mL	10	>1	>10
		20-100IU/mL	10	>1	>10
		100-400IU/mL	10	>1	>10
		400-1000IU/mL	10	>1	>10
		1000-10000IU/mL	10	>1	>10

合計　>130 テスト分

（＋各試薬の較正分。測定回数は、各メーカー判断のため、それにあわせて準備する）

試薬メーカー　　：栄研化学

評価サンプル		濃度段階	n数	測定回数	テスト数
公的標準品	75/589-緩衝液ベース	0、500、1000、2000、4000、8000、16000mIU/mL	7	>1	>7
	75/589-ヒト血清ベース	〃	7	>1	>7
	99-688-緩衝液ベース	〃	7	>1	>7
	99-688-ヒト血清ベース	〃	7	>1	>7
精製物質	nativeHCG/緩衝液ベース	〃	7	>1	>7
	nativeHCG/ヒト血清ベース	〃	7	>1	>7
	recombinantHCG/緩衝液ベース	〃	7	>1	>7
	recombinantHCG/ヒト血清ベース	〃	7	>1	>7
実検体		2-20IU/mL	10	>1	>10
		20-100IU/mL	10	>1	>10
		100-400IU/mL	10	>1	>10
		400-1000IU/mL	10	>1	>10
		1000-10000IU/mL	10	>1	>10

合計　>106 テスト分

（＋各試薬の較正分。測定回数は、各メーカー判断のため、それにあわせて準備する）

試薬メーカー　　：ロシュ

評価サンプル		濃度段階	n数	測定回数	テスト数
公的標準品	75/589-緩衝液ベース	0、8、16、31、63、125、250、500、1000、2000、4000、8000、16000mIU/mL	13	>1	>13
	75/589-ヒト血清ベース	〃	13	>1	>13
	99-688-緩衝液ベース	〃	13	>1	>13
	99-688-ヒト血清ベース	〃	13	>1	>13
精製物質	nativeHCG/緩衝液ベース	〃	13	>1	>13
	nativeHCG/ヒト血清ベース	〃	13	>1	>13
	recombinantHCG/緩衝液ベース	〃	13	>1	>13
	recombinantHCG/ヒト血清ベース	〃	13	>1	>13
実検体		2-20IU/mL	10	>1	>10
		20-100IU/mL	10	>1	>10
		100-400IU/mL	10	>1	>10
		400-1000IU/mL	10	>1	>10
		1000-10000IU/mL	10	>1	>10

合計　>154 テスト分

（＋各試薬の較正分。測定回数は、各メーカー判断のため、それにあわせて準備する）

測定に必要なサンプル量

各社の1回の測定に使用する検体量＋デッドボリューム　≦200μL（栄研化学以外）
400μL（栄研化学）
↓
余裕を見て300μLとする。
3重測定として各サンプル必要量は、 1 mL

小分け分注本数

各試薬1本（栄研化学は2本）とする

公的標準品、精製品	0mIU/mL	16 本
	8	14 本
	16	14 本
	31	14 本
	63	14 本
	125	14 本
	250	14 本
	500	16 本
	1000	16 本
	2000	16 本
	4000	4 本
	8000	4 本
	16000	4 本
実検体	2-20IU/mL	16 本
	20-100IU/mL	16 本
	100-400IU/mL	16 本
	400-1000IU/mL	16 本
	1000-10000IU/mL	16 本

評価サンプル必要量　1mL x 最大16本＋α（予備、保存用） 20 mL

実検体必要量　検体数 50

追加検討を考慮して必要量x2　各検体必要量 40 mL

各評価サンプル調製に必要な原料

[計算基準]
例：75/589-緩衝液ベース　HCG抗原

濃度	液量	必要量
0	20	0
7.81	20	156.2
15.62	20	312.4
31.25	20	625
62.5	20	1250
125	20	2500
250	20	5000
500	20	10000
1000	20	20000
2000	20	40000
4000	20	80000
8000	20	160000
16000	20	320000
[mIU/mL]	[mL]	[mIU]

合計 639843.6 mIU

緩衝液　合計 260 mL

[必要原料]

75/589	639IUx2系列＝1278IU	650 IU/ampoule	必要量	2 本
			購入量（必要量＋α）	4 本
99-688	〃	800IU/ampoule	必要量	2 本
			購入量（必要量＋α）	4 本
nativeHCG	〃	14000IU/mg	必要量	0.1 mg
			購入量（必要量＋α）	1 mg
recombinantHCG	〃	14000IU/mg？(不明)	必要量	0.1 mg
			購入量（必要量＋α）	1 mg
緩衝液	220mLx4系列		必要量	880 mL
			調製量（必要量＋α）	1000 mL
ヒト血清	〃		必要量	880 mL
			購入量（必要量＋α）	1000 mL

[ベース液組成]

緩衝液　：50mM トリス-塩酸緩衝液、150mM 塩化ナトリウム、0.5% BSA、pH7.4 （アジ化ナトリウム不含）

ヒト血清　：脱脂処理ヒト正常血清 （アジ化ナトリウム不含） 又はHECTEF脱脂血清

添付資料２-１　実検体相関（区分Ａ～Ｅ）①

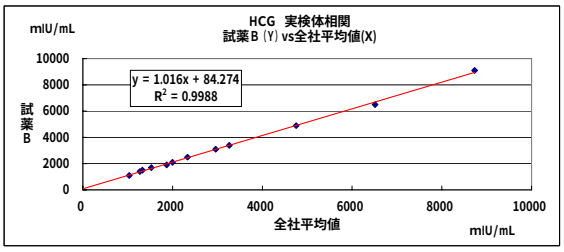
実検体相関（全社平均値に対する相関）

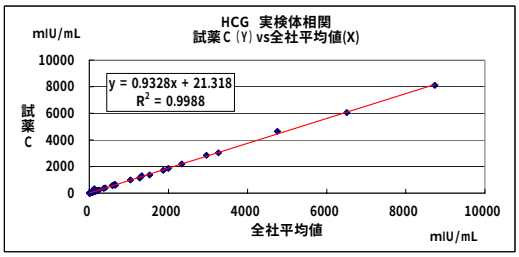
実検体		理論濃度	B 測定結果	C 測定結果	E 測定結果	F 測定結果	G 測定結果	H 測定結果	I 測定結果	J 測定結果	K 測定結果	L 測定結果	平均	SD	CV (%)
		(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)			
区分A	105	2～20		1.81	3.9	4.1	0.00	2.14	3.6	3.3395	3.445	2.9	2.804	1.300	46.4
	106			6.71	9.6	9.5	6.89	6.94	9.2	7.5	8.34	6.7	7.931	1.239	15.6
	107			15.20	18.4	19.2	15.12	14.86	18.2	14.65	16.355	12.0	15.998	2.278	14.2
	108			17.60	22.4	22.9	17.78	17.51	23.2	17.725	20.435	13.0	19.172	3.345	17.4
	109			326.00	9.5	193.9	7.67	6.50	325.9	8.6	273.5	6.4	128.663	148.410	115.3
	110			318.00	9.5	193.4	7.23	6.06	318.0	8.095	255.5	6.2	124.665	143.763	115.3
	111			14.00	15.7	16.1	11.32	15.52	16.1	14.42	15.185	8.9	14.138	2.465	17.4
区分B	112	20～100		28.9	31.5	32.8	26.03	24.62	32.3	42.1	47.68	19	31.659	8.779	27.7
	113			31.0	35.4	35.8	31.09	29.30	29.3	29.98	30.06	21	30.326	4.272	14.1
	114			53.7	61.9	64.2	50.86	51.56	62.2	49.735	55.61	44	54.863	6.742	12.3
	115			79.2	94.2	91.6	83.01	80.55	89.9	79.305	89.64	66	83.712	8.730	10.4
	116			91.4	105.9	107.7	95.14	90.69	122.9	91.11	112.85	79	99.632	13.632	13.7
	117			103.0	65.4	92.6	51.65	55.64	120.6	50.81	97.3	45	75.778	27.754	36.6
	118			78.1	76.1	87.6	59.96	52.02	105.4	60.49	91.645	56	74.146	18.337	24.7
	119			81.9	79.9	90.1	65.45	52.47	112.4	62.695	92.25	61	77.574	18.982	24.5
区分C	120	100～400		127	153.5	146.6	133.4	138.9	164.7	134.4	153.3	110	140.199	16.422	11.7
	121			144	152.1	148.5	137.6	154.6	250.6	133.6	156.1	98	152.786	40.740	26.7
	122			192	213.5	204.7	205.8	187.5	232.0	190.4	219.4	150	199.478	23.580	11.8
	123			237	246.4	250.8	227.6	258.6	315.2	211.9	251.9	210	245.493	31.390	12.8
	124			359	393.9	364.5	381.7	350.3	435.4	309.6	365.75	290	361.126	43.132	11.9
	125			188	220.4	214.6	193.8	133.5	223.7	181.7	211.3	200	196.328	27.712	14.1
	126			126	164.9	160.1	142.5	96.0	154.7	133.6	152.25	130	140.007	21.414	15.3
	127			177	233.6	221.9	197.6	137.9	228.0	173.2	211.1	190	196.704	30.868	15.7
区分D	128	400～1000		394	442.1	461.7	332.1	399.8	445.2	381.05	444.35	310	401.139	53.248	13.3
	129			580	662.1	648.2	563.0	568.0	690.7	488.7	587.4	410	577.571	87.547	15.2
	130			606	701.2	689.3	581.5	672.6	680.4	582.1	681.45	370	618.282	104.388	16.9
	131		1400	1140	1429.0	1412.1	1213	1453.1	1434.5	1097.5	1276.5	870	1272.568	192.306	15.1
	132		1100	994	1206.2	1116.0	859.4	1132.7	1162.9	957.8	1052	780	1036.104	137.350	13.3
	133			609	770.5	741.9	685.7	465.6	740.7	591.7	687.35	610	655.823	96.342	14.7
	134			615	757.7	740.0	625.7	471.3	779.6	612.1	686.55	600	654.218	97.052	14.8
	135			668	680.3	764.8	588.7	490.0	845.9	537.5	712.7	480	640.880	125.941	19.7
区分E	136	000～1000	1700	1370	1763	1704.2	1528	1579	1635.7	1305	1471	1200	1525.592	187.261	12.3
	137		1500	1310	1498	1482.3	1230	1382	1413.0	1157.5	1304	1000	1327.700	163.152	12.3
	138		3400	3030	3701	3493.7	3266	3446	3578.7	3018.5	3199.5	2500	3263.283	349.095	10.7
	139		3100	2850	3422	3496.8	2814	3201	2977.0	2768	2883.5	2100	2961.292	393.801	13.3
	140		4900	4640	5399	4654.1	5068	5303	5316.2	4282	4387.5	3600	4755.028	564.287	11.9
	141		6500	6060	7851	7449.4	6518	6980	7016.2	5897.5	5747	5100	6511.906	837.098	12.9
	142		9100	8110	10781	9245.0	8976	10350	8584.0	7806.5	7764.5	6600	8731.697	1248.143	14.3
	143		1900	1720	2148	2086.0	1781	2373	1954.8	1698	1824	1200	1868.411	315.432	16.9
	144		2100	1860	2269	2317.6	2046	2481	2151.4	1743.5	1821	1200	1998.899	364.631	18.2
	145		2500	2200	2526	2485.2	2208	2887	2571.3	2237	2332	1400	2334.604	389.402	16.7
注記													平均CV (%)		21.7

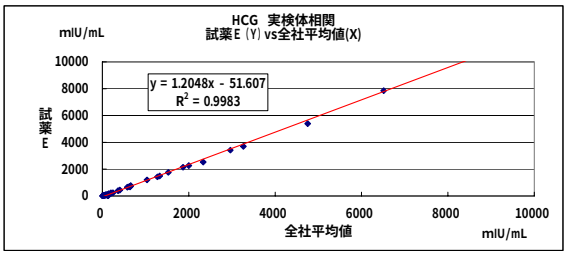
実検体の相関 区分A～E X：全社平均 Y：各社												平均	SD	CV (%)
	傾き	1.02	0.93	1.20	1.08	1.02	1.15	1.03	0.90	0.90	0.76	0.998	0.131	13.2
	切片	84.27	21.32	-51.61	19.55	-37.15	-59.51	61.37	-5.47	64.83	-18.88			
	r2	0.9988	0.9988	0.9983	0.9964	0.9985	0.9953	0.9961	0.9993	0.9978	0.9952			
	r	0.9994	0.9994	0.9991	0.9982	0.9992	0.9977	0.9980	0.9997	0.9989	0.9976			

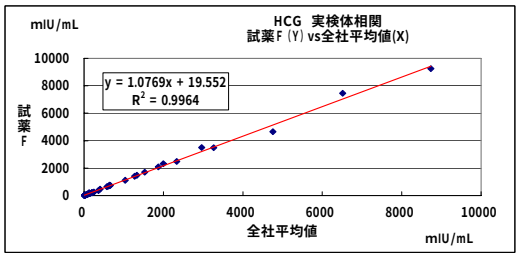
実検体の相関 区分A～C X：全社平均 Y：各社												平均	SD	CV (%)
	傾き	#DIV/0!	1.01	1.06	1.03	1.01	0.91	1.25	0.85	1.05	0.83	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
	切片	#DIV/0!	13.44	-8.56	9.72	-14.63	-12.70	12.78	-4.25	14.27	-10.06			
	r2	#DIV/0!	0.7078	0.8637	0.9626	0.8729	0.8408	0.8306	0.8586	0.8624	0.8514			
	r	#DIV/0!	0.8413	0.9294	0.9811	0.9343	0.9169	0.9114	0.9266	0.9287	0.9227			

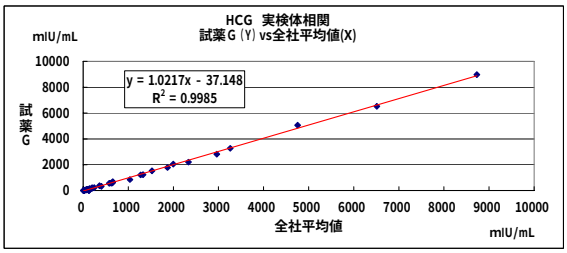
添付資料２-２　実検体相関（区分Ａ～Ｅ）②

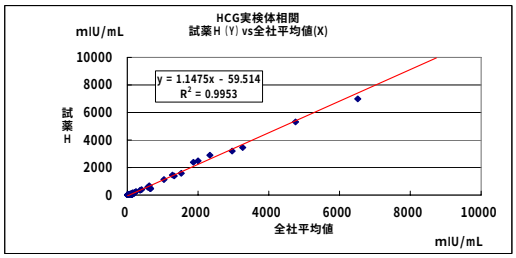


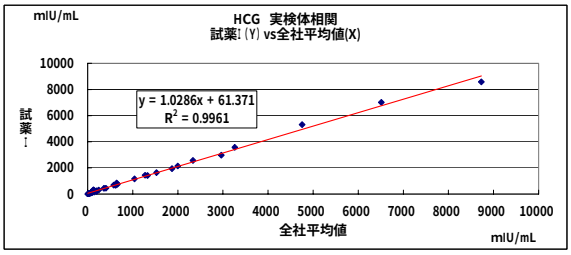


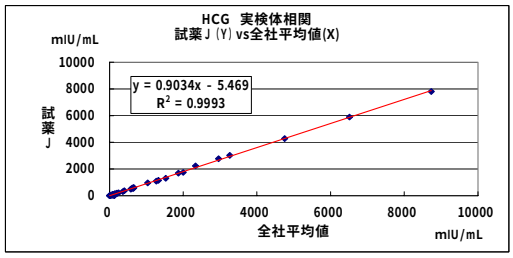


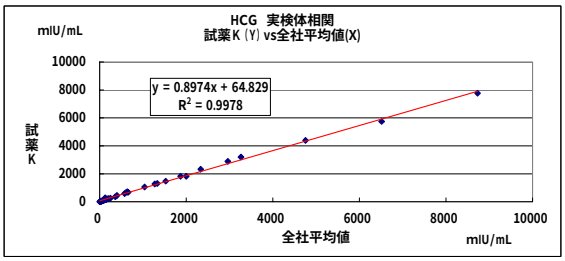


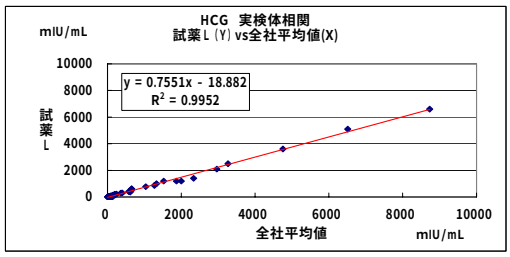




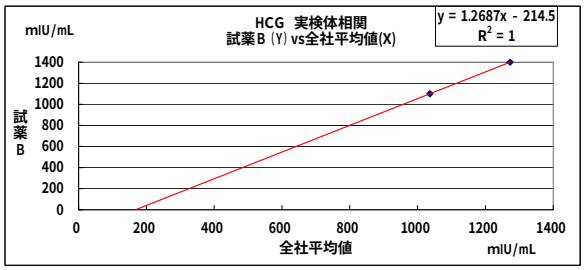


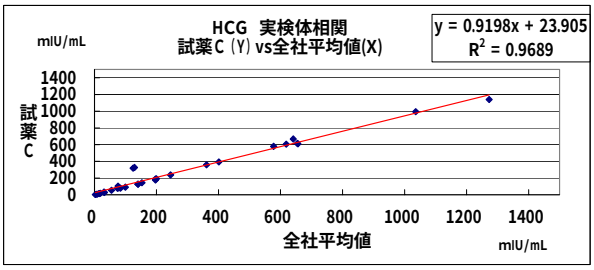


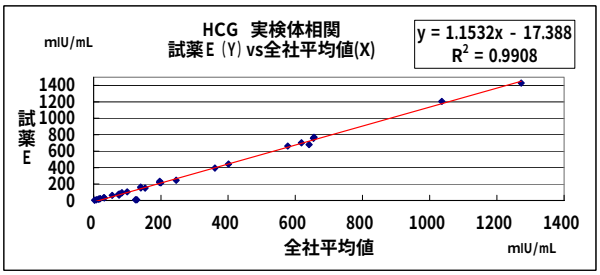


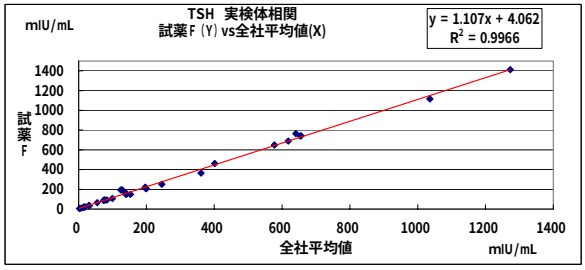


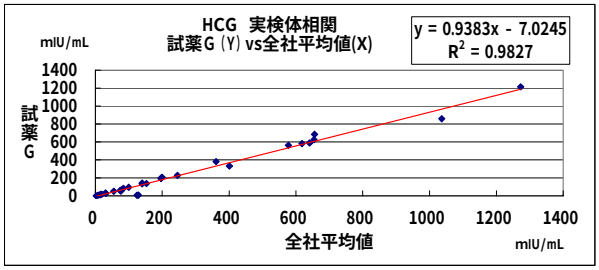
添付資料３　実検体相関（区分 A～D）

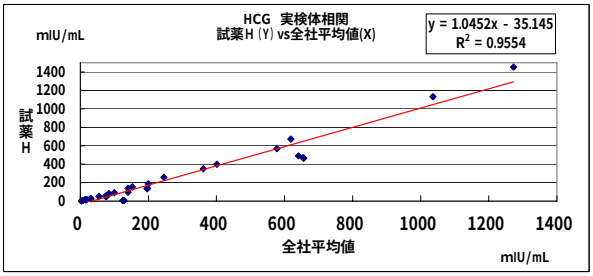


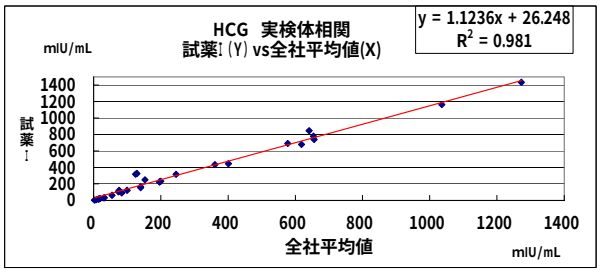


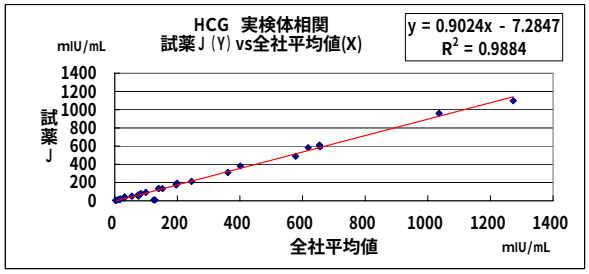


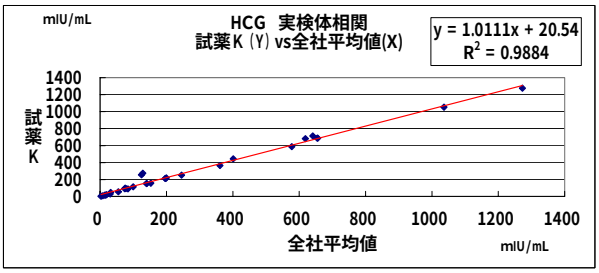


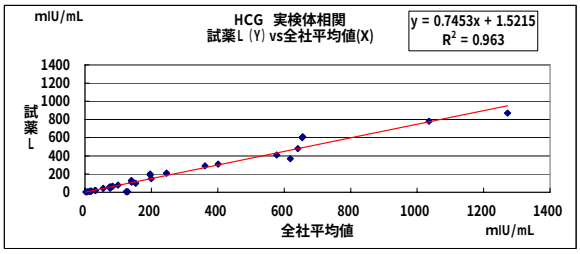












添付資料４　全社平均値に対するバイアス

全社平均値に対するバイアス

			B	C	E	F	G	H	I	J	K	L	最大	最小
実検体		理論濃度	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ	ズレ		
		(mIU/ml)	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
区分A	105	2～20		-35.4	39.1	46.2	-100.0	-23.7	28.4	19.1	22.9	3.4	46.2	-100.0
	106			-15.4	21.0	19.8	-13.1	-12.5	16.0	-5.4	5.2	-15.5	21.0	-15.5
	107			-5.0	15.0	20.0	-5.5	-7.1	13.8	-8.4	2.2	-25.0	20.0	-25.0
	108			-8.2	16.8	19.4	-7.3	-8.7	21.0	-7.5	6.6	-32.2	21.0	-32.2
	109			153.4	-92.6	50.7	-94.0	-94.9	153.3	-93.3	112.6	-95.0	153.4	-95.0
	110			155.1	-92.4	55.1	-94.2	-95.1	155.1	-93.5	104.9	-95.0	155.1	-95.1
	111			-1.0	11.0	13.9	-19.9	9.8	13.9	2.0	7.4	-37.1	13.9	-37.1
区分B	112	20～100		-8.7	-0.5	3.6	-17.8	-22.2	2.0	33.0	50.6	-40.0	50.6	-40.0
	113			2.2	16.7	18.1	2.5	-3.4	-3.4	-1.1	-0.9	-30.8	18.1	-30.8
	114			-2.1	12.8	17.0	-7.3	-6.0	13.4	-9.3	1.4	-19.8	17.0	-19.8
	115			-5.4	12.5	9.4	-0.8	-3.8	7.4	-5.3	7.1	-21.2	12.5	-21.2
	116			-8.3	6.3	8.1	-4.5	-9.0	23.4	-8.6	13.3	-20.7	23.4	-20.7
	117			35.9	-13.7	22.2	-31.8	-26.6	59.1	-32.9	28.4	-40.6	59.1	-40.6
	118			5.3	2.6	18.1	-19.1	-29.8	42.2	-18.4	23.6	-24.5	42.2	-29.8
	119			5.6	3.0	16.1	-15.6	-32.4	44.9	-19.2	18.9	-21.4	44.9	-32.4
区分C	120	100～400		-9.4	9.5	4.6	-4.8	-0.9	17.5	-4.1	9.3	-21.5	17.5	-21.5
	121			-5.8	-0.4	-2.8	-9.9	1.2	64.0	-12.6	2.2	-35.9	64.0	-35.9
	122			-3.7	7.0	2.6	3.2	-6.0	16.3	-4.6	10.0	-24.8	16.3	-24.8
	123			-3.5	0.4	2.2	-7.3	5.4	28.4	-13.7	2.6	-14.5	28.4	-14.5
	124			-0.6	9.1	0.9	5.7	-3.0	20.6	-14.3	1.3	-19.7	20.6	-19.7
	125			-4.2	12.3	9.3	-1.3	-32.0	13.9	-7.5	7.6	1.9	13.9	-32.0
	126			-10.0	17.8	14.4	1.8	-31.4	10.5	-4.6	8.7	-7.1	17.8	-31.4
	127			-10.0	18.8	12.8	0.5	-29.9	15.9	-11.9	7.3	-3.4	18.8	-29.9
区分D	128	400～1000		-1.8	10.2	15.1	-17.2	-0.3	11.0	-5.0	10.8	-22.7	15.1	-22.7
	129			0.4	14.6	12.2	-2.5	-1.7	19.6	-15.4	1.7	-29.0	19.6	-29.0
	130			-2.0	13.4	11.5	-5.9	8.8	10.0	-5.9	10.2	-40.2	13.4	-40.2
	131		10.0	-10.4	12.3	11.0	-4.7	14.2	12.7	-13.8	0.3	-31.6	14.2	-31.6
	132		6.2	-4.1	16.4	7.7	-17.1	9.3	12.2	-7.6	1.5	-24.7	16.4	-24.7
	133			-7.1	17.5	13.1	4.6	-29.0	12.9	-9.8	4.8	-7.0	17.5	-29.0
	134			-6.0	15.8	13.1	-4.4	-28.0	19.2	-6.4	4.9	-8.3	19.2	-28.0
	135			4.2	6.2	19.3	-8.1	-23.5	32.0	-16.1	11.2	-25.1	32.0	-25.1
区分E	136	1000～10000	11.4	-10.2	15.6	11.7	0.2	3.5	7.2	-14.5	-3.6	-21.3	15.6	-21.3
	137		13.0	-1.3	12.8	11.6	-7.4	4.1	6.4	-12.8	-1.8	-24.7	12.8	-24.7
	138		4.2	-7.1	13.4	7.1	0.1	5.6	9.7	-7.5	-2.0	-23.4	13.4	-23.4
	139		4.7	-3.8	15.6	18.1	-5.0	8.1	0.5	-6.5	-2.6	-29.1	18.1	-29.1
	140		3.0	-2.4	13.5	-2.1	6.6	11.5	11.8	-9.9	-7.7	-24.3	13.5	-24.3
	141		-0.2	-6.9	20.6	14.4	0.1	7.2	7.7	-9.4	-11.7	-21.7	20.6	-21.7
	142		4.2	-7.1	23.5	5.9	2.8	18.5	-1.7	-10.6	-11.1	-24.4	23.5	-24.4
	143		1.7	-7.9	14.9	11.6	-4.7	27.0	4.6	-9.1	-2.4	-35.8	27.0	-35.8
	144		5.1	-6.9	13.5	15.9	2.4	24.1	7.6	-12.8	-8.9	-40.0	24.1	-40.0
	145		7.1	-5.8	8.2	6.5	-5.4	23.7	10.1	-4.2	-0.1	-40.0	23.7	-40.0
全社平均値からのバイアス量の平均(%)　区分A～D			8.1	6.3	4.5	15.6	-16.0	-16.5	29.3	-13.0	16.1	-26.7	33.6	-34.7
全社平均値からのバイアス量の平均(%)　区分B～D			8.1	-2.1	9.2	10.8	-6.8	-11.7	21.1	-9.0	9.9	-22.2	25.5	-28.1

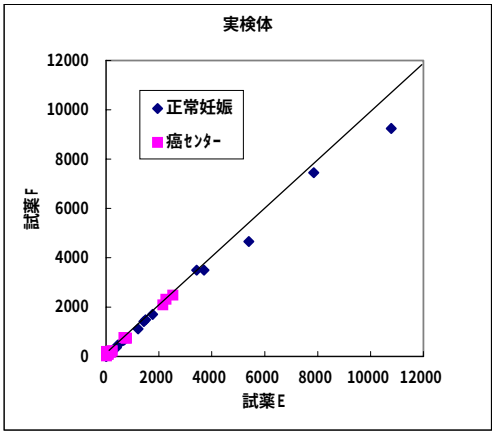
添付資料５　インタクトＨＣＧとトータルβＨＣＧとの相関（試薬Ｅと試薬Ｆ）

実検体（相関）

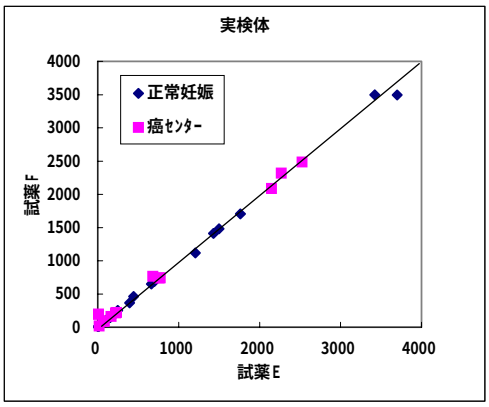
No.	検体		インタクトHCG 全データ	トータルβHCG 全データ	トータルβHCG（疾患群別） 正常妊娠	癌ｾﾝﾀｰ
105	実検体区分A	正常妊娠１	3.9	4.1	4.1	
106		正常妊娠３	9.6	9.5	9.5	
107		正常妊娠５	18.4	19.2	19.2	
108		正常妊娠７	22.4	22.9	22.9	
109		高値検体１	9.5	193.9		193.9
110		高値検体２	9.5	193.4		193.4
111		高値検体３	15.7	16.1		16.1
112	実検体区分B	正常妊娠８	31.5	32.8	32.8	
113		正常妊娠９	35.4	35.8	35.8	
114		正常妊娠１０	61.9	64.2	64.2	
115		正常妊娠１２	94.2	91.6	91.6	
116		正常妊娠１４	105.9	107.7	107.7	
117		高値検体４	65.4	92.6		92.6
118		高値検体５	76.1	87.6		87.6
119		高値検体６	79.9	90.1		90.1
120	実検体区分C	正常妊娠１５	153.5	146.6	146.6	
121		正常妊娠１６	152.1	148.5	148.5	
122		正常妊娠１７	213.5	204.7	204.7	
123		正常妊娠１９	246.4	250.8	250.8	
124		正常妊娠２１	393.9	364.5	364.5	
125		高値検体７	220.4	214.6		214.6
126		高値検体８	164.9	160.1		160.1
127		高値検体９	233.6	221.9		221.9
128	実検体区分D	正常妊娠２２	442.1	461.7	461.7	
129		正常妊娠２４	662.1	648.2	648.2	
130		正常妊娠２５	701.2	689.3	689.3	
131		正常妊娠２６	1429.0	1412.1	1412.1	
132		正常妊娠２８	1206.2	1116.0	1116.0	
133		高値検体１０	770.5	741.9		741.9
134		高値検体１１	757.7	740.0		740.0
135		高値検体１２	680.3	764.8		764.8
136	実検体区分E	正常妊娠２９	1763.2	1704.2	1704.2	
137		正常妊娠３０	1497.8	1482.3	1482.3	
138		正常妊娠３１	3700.5	3493.7	3493.7	
139		正常妊娠３２	3422.3	3496.8	3496.8	
140		正常妊娠３３	5399.3	4654.1	4654.1	
141		正常妊娠３４	7851.4	7449.4	7449.4	
142		正常妊娠３５	10780.5	9245.0	9245.0	
143		高値検体１３	2147.7	2086.0		2086.0
144		高値検体１４	2268.9	2317.6		2317.6
145		高値検体１５	2525.7	2485.2		2485.2

（コメント）
・低濃度域の乖離検体(5例)についてはトータルβHCG値が高いことから、検体中にフリーβサブユニット等の存在が推察される。

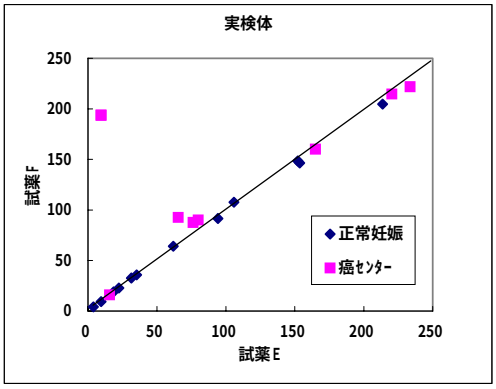
●全検体



●＜4000mIU/ml



●＜250mIU/ml



添付資料６-１　実検体相関（インタクト、トータルβ別）①

(検討2) 実検体2社相関 (試薬Eを対照とした場合)

検討1において、フリーβサブユニットの存在が疑われる検体が確認されたため、
フリーβサブユニットが存在する可能性が少ない検体と、存在の可能性が高い検体に分けて相関性を検討した。

freeβ (-) : フリーβサブユニットが存在する可能性が低いと推定される検体群。
freeβ (+) : フリーβサブユニットが存在する可能性が高いと推定される検体群。

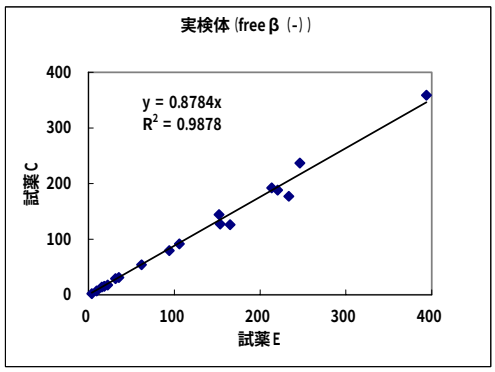
(注)　フリーβの有無の判断基準はインタクトHCGキットとトータルβHCGキット間での乖離の有無によるもので、フリーβの存在は推定であることに注意。
高濃度検体は希釈の影響による差が考えられるため、区分A～Cの検体を対象として相関図を作成した。
相関回帰式は、y切片を0として算出した。

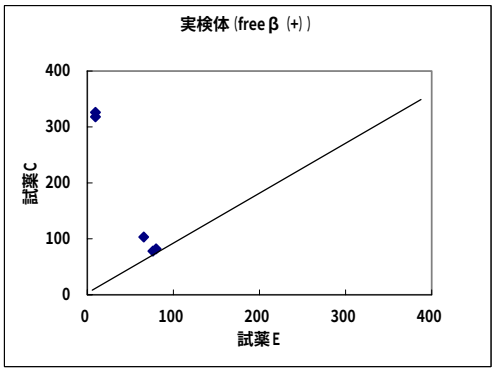
			対照 (E)*		B	C	E	F	G	H	I	J	K	L
実検体		理論濃度	freeβ (-)	freeβ (+)	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果	測定結果
		(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)	(mIU/ml)
区分A	105	2～20	3.9		0	1.81	3.9	4.1	0.00	2.14	3.6	3.3395	3.445	2.9
	106		9.6		0	6.71	9.6	9.5	6.89	6.94	9.2	7.5	8.34	6.7
	107		18.4		0	15.20	18.4	19.2	15.12	14.86	18.2	14.65	16.355	12.0
	108		22.4		0	17.60	22.4	22.9	17.78	17.51	23.2	17.725	20.435	13.0
	109			9.5	0	326.00	9.5	193.9	7.67	6.50	325.9	8.6	273.5	6.4
	110			9.5	0	318.00	9.5	193.4	7.23	6.06	318.0	8.095	255.5	6.2
	111		15.7		0	14.00	15.7	16.1	11.32	15.52	16.1	14.42	15.185	8.9
区分B	112	20～100	31.5		0	28.9	31.5	32.8	26.03	24.62	32.3	42.1	47.68	19
	113		35.4		0	31.0	35.4	35.8	31.09	29.30	29.3	29.98	30.06	21
	114		61.9		0	53.7	61.9	64.2	50.86	51.56	62.2	49.735	55.61	44
	115		94.2		0	79.2	94.2	91.6	83.01	80.55	89.9	79.305	89.64	66
	116		105.9		0	91.4	105.9	107.7	95.14	90.69	122.9	91.11	112.85	79
	117			65.4	0	103.0	65.4	92.6	51.65	55.64	120.6	50.81	97.3	45
	118			76.1	0	78.1	76.1	87.6	59.96	52.02	105.4	60.49	91.645	56
	119			79.9	0	81.9	79.9	90.1	65.45	52.47	112.4	62.695	92.25	61
区分C	120	100～400	153.5		0	127	153.5	146.6	133.4	138.9	164.7	134.4	153.3	110
	121		152.1		0	144	152.1	148.5	137.6	154.6	250.6	133.6	156.1	98
	122		213.5		0	192	213.5	204.7	205.8	187.5	232.0	190.4	219.4	150
	123		246.4		0	237	246.4	250.8	227.6	258.6	315.2	211.9	251.9	210
	124		393.9		0	359	393.9	364.5	381.7	350.3	435.4	309.6	365.75	290
	125		220.4		0	188	220.4	214.6	193.8	133.5	223.7	181.7	211.3	200
	126		164.9		0	126	164.9	160.1	142.5	96.0	154.7	133.6	152.25	130
	127		233.6		0	177	233.6	221.9	197.6	137.9	228.0	173.2	211.1	190
区分D	128	400～1000	442.1		0	394	442.1	461.7	332.1	399.8	445.2	381.05	444.35	310
	129		662.1		0	580	662.1	648.2	563.0	568.0	690.7	488.7	587.4	410
	130		701.2		0	606	701.2	689.3	581.5	672.6	680.4	582.1	681.45	370
	131		1429.0		1400	1140	1429.0	1412.1	1213	1453.1	1434.5	1097.5	1276.5	870
	132		1206.2		1100	994	1206.2	1116.0	859.4	1132.7	1162.9	957.8	1052	780
	133		770.5		0	609	770.5	741.9	685.7	465.6	740.7	591.7	687.35	610
	134		757.7		0	615	757.7	740.0	625.7	471.3	779.6	612.1	686.55	600
	135		680.3		0	668	680.3	764.8	588.7	490.0	845.9	537.5	712.7	480
区分E	136	1000～10000	1763		1700	1370	1763	1704.2	1528	1579	1635.7	1305	1471	1200
	137		1498		1500	1310	1498	1482.3	1230	1382	1413.0	1157.5	1304	1000
	138		3701		3400	3030	3701	3493.7	3266	3446	3578.7	3018.5	3199.5	2500
	139		3422		3100	2850	3422	3496.8	2814	3201	2977.0	2768	2883.5	2100
	140		5399		4900	4640	5399	4654.1	5068	5303	5316.2	4282	4387.5	3600
	141		7851		6500	6060	7851	7449.4	6518	6980	7016.2	5897.5	5747	5100
	142		10781		9100	8110	10781	9245.0	8976	10350	8584.0	7806.5	7764.5	6600
	143		2148		1900	1720	2148	2086.0	1781	2373	1954.8	1698	1824	1200
	144		2269		2100	1860	2269	2317.6	2046	2481	2151.4	1743.5	1821	1200
	145		2526		2500	2200	2526	2485.2	2208	2887	2571.3	2237	2332	1400

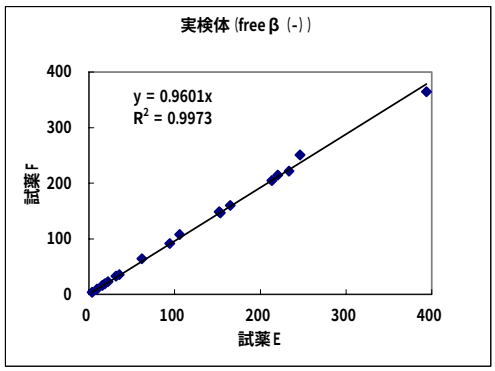
(コメント)
・freeβ (+) の検体群では、キット間の差が大きくなる場合があることが確認された。
・freeβ (-) の検体群の中でも、キットによっては若干の乖離を示すものが確認された。
・freeβ (-) およびfreeβ (+) の各検体群における相関性の比較から大きく以下の2つのグループに分けられた。
なお、最終的な判断にはフリーβサブユニットの確認試験が必要と思われる。

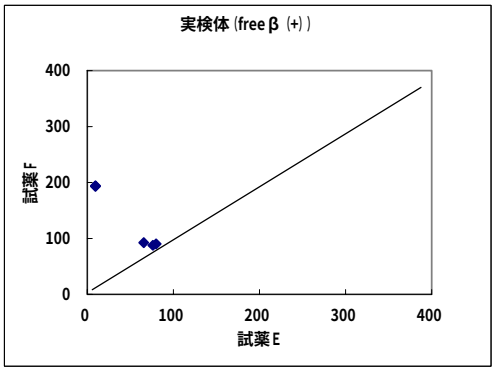
①フリーβサブユニットに反応すると推定されるキット	②フリーβサブユニットに反応しないと推定されるキット	③未確認
試薬C	試薬E	試薬B
試薬F	試薬G	
試薬I	試薬H	
試薬K	試薬J	
	試薬L	

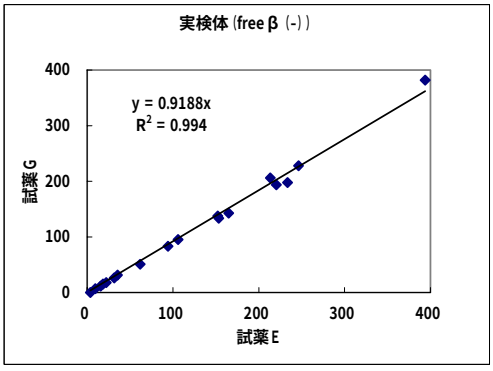
添付資料６-２　実検体相関（インタクト、トータルβ別）②

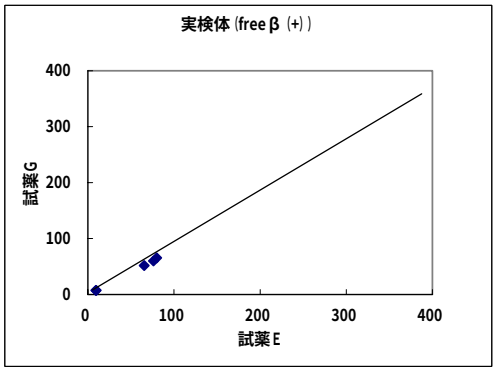


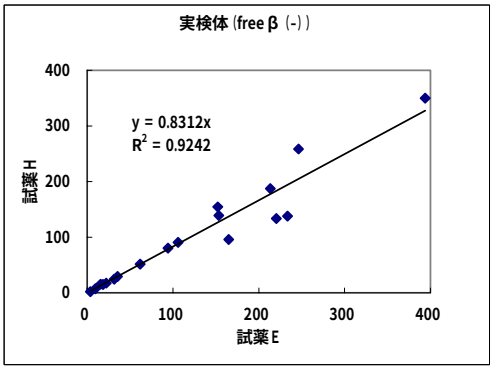


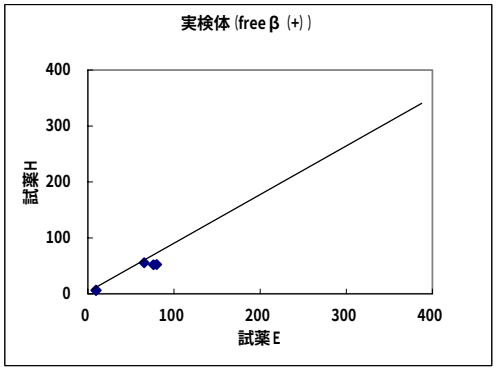




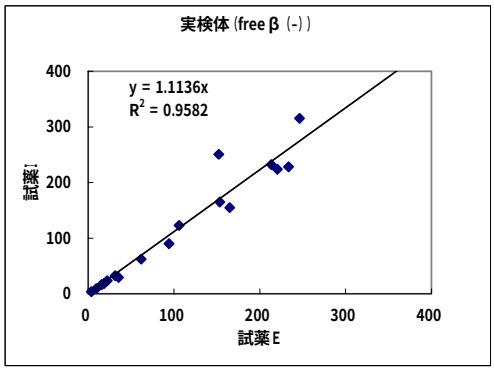


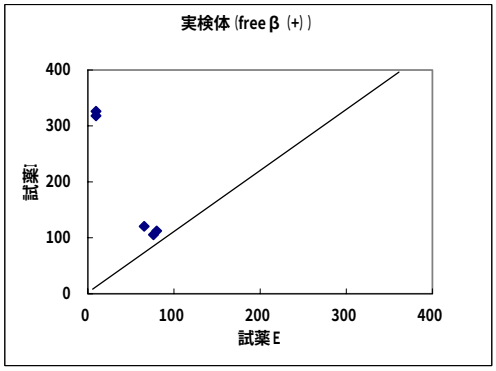


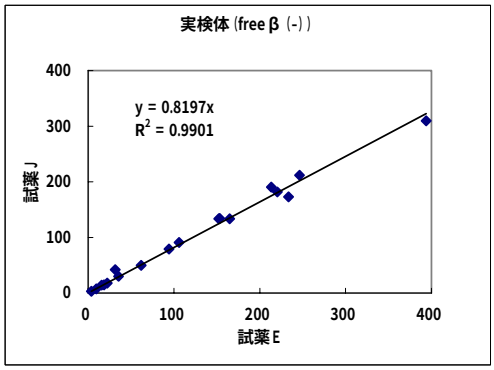


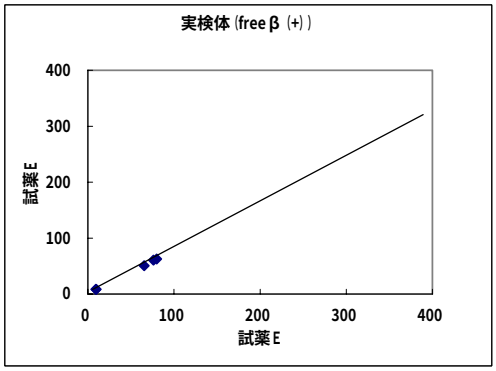


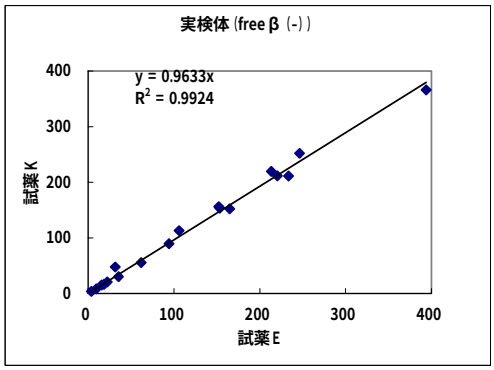
添付資料６-３　実検体相関（インタクト、トータルβ別）③

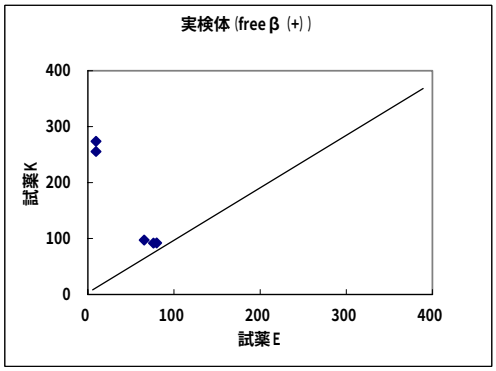


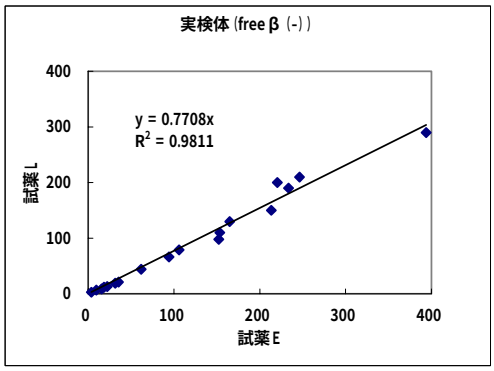


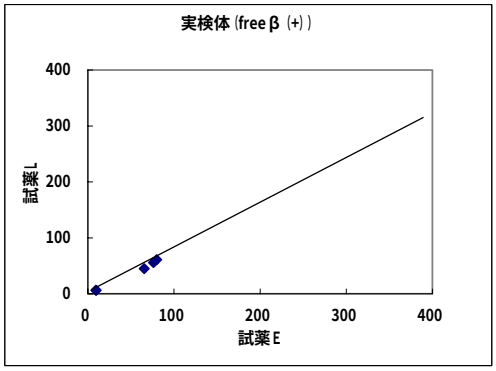












添付資料７-１　評価用抗原測定値①

希釈して測定

			コード	A	B	C	E	F	G	H	I	J	K	L
評価用標準品			理論濃度 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)
系列(1)	NIBSC (75/589) 緩衝液	1	0	0.00	0	3.5	0.0	0.0	0.00	0.00	0.1	1.48	0.848	0.1
		2	8	8.36		11.2	7.9	7.8	6.96	7.20	7.8	8.32	7.925	5.4
		3	16	15.45		19.9	17.5	17.6	15.31	17.30	16.7	14.75	13.79	11
		4	31	30.75		37.2	35.3	34.3	30.54	32.00	32.9	28.57	29.69	22
		5	63	62.24		68.7	63.1	64.5	65.30	68.60	60.6	53.36	53.855	45
		6	125	135.93		135.0	144.5	139.3	131.40	138.40	129.2	78.12	83.595	96
		7	250	267.81		270.0	271.3	260.2	277.90	282.50	260.8	191.00	206.7	180
		8	500	551.51		541.0	507.5	512.6	576.60	605.40	511.3	447.20	493.15	380
		9	1000	1047.00	1200	1046.0	961.0	923.3	>1000	1173.00	941.5	651.35	707.5	>800
		10	2000	>1200	2300	1994.0	1697.4	1441.0	>1000	2447.70	1893.6	1403.50	1537	
		11	4000		4800							3056.00	3092	
		12	8000		9000							6587.50	6393	
		13	16000		18800							14890.00	15980	
系列(2)	NIBSC (75/589) ヒト血清	1	0		0	6.5	0.0	0.0	0.00	0.00	0.1	0.6785	0.1095	0
		2	8			16.0	9.5	9.5	7.97	6.94	7.8	7.88	7.715	5.2
		3	16			26.2	18.4	18.0	16.37	14.42	14.9	15.095	15.67	9.2
		4	31			46.0	40.8	40.8	33.78	30.19	32.0	28.775	30.375	20
		5	63			83.5	85.0	82.2	68.89	64.97	62.6	59.065	63.985	52
		6	125			160.0	157.9	152.4	138.60	133.68	132.0	113.5	125.7	90
		7	250			320.0	309.8	309.3	282.80	276.72	253.4	232.3	259.05	160
		8	500			647.0	645.4	608.1	601.60	528.16	520.0	443.25	480.95	330
		9	1000		1200	1049.0	1079.8	1260.7	965.70	1096.91	955.4	936.3	997.5	650
		10	2000		2300	1983.0	2297.1	2422.7	>1000	2069.01	2011.6	1724.5	1826.5	
		11	4000		4800							3450.5	3536	
		12	8000		9000							7062	6900.5	
		13	16000		18800							14665	16030	
系列(3)	NIBSC (99/688) 緩衝液	1	0	0.00	0	4.3	0.0	0.0	0.00	0.00	0.2	1.605	0.8835	0
		2	8	8.89		14.0	8.9	9.0	8.08	10.23	6.9	8.445	7.405	4.4
		3	16	17.94		25.0	21.9	22.4	16.13	21.06	13.7	14.44	12.5	7.7
		4	31	35.94		44.6	45.9	45.7	33.56	43.88	28.9	32.285	29.6	16
		5	63	72.21		89.8	88.2	87.1	74.22	83.08	54.0	57.03	52.74	40
		6	125	155.39		168.0	165.3	166.3	148.30	181.21	113.6	120.4	111.9	83
		7	250	320.80		332.0	390.7	375.9	293.90	353.92	230.8	245.55	235.5	150
		8	500	644.01		646.0	673.9	760.7	622.00	680.93	479.4	447.75	436.45	310
		9	1000	1186.70	1100	1238.0	1051.4	1166.7	>1000	1396.33	842.1	823.85	805.7	600
		10	2000	>1200	2100	2426.0	2515.4	2533.6	>1000	2730.48	1576.6	1860	1763.5	
		11	4000		4500							3592	3285	
		12	8000		8500							7135	6287.5	
		13	16000		17700							17430	15940	
系列(4)	NIBSC (99/688) ヒト血清	1	0		0	5.7	0.0	0.0	0.00	0.00	0.2	0.536	0	0.1
		2	8			17.9	10.9	11.0	8.48	8.69	7.3	8.39	7.22	4.2
		3	16			27.6	22.1	21.4	16.83	20.84	14.0	14.865	13.345	8.1
		4	31			50.0	47.1	47.9	35.79	41.18	27.7	32.935	29.85	16
		5	63			91.7	89.0	86.6	75.03	84.69	55.4	60.965	56.34	34
		6	125			186.0	181.1	182.9	151.90	175.18	117.5	128.9	120.65	65
		7	250			356.0	355.9	344.4	329.20	350.01	221.3	258.9	242.75	140
		8	500			687.0	589.5	557.8	643.30	710.94	476.5	535.2	493.2	270
		9	1000		1000	1180.0	1513.3	1394.1	>1000	1440.86	887.4	1030.5	948.6	510
		10	2000		2100	2279.0	2955.9	3320.0	>1000	2570.00	1521.0	2074	1864	
		11	4000		4400							4383	3789.5	
		12	8000		8600							7340	6317	
		13	16000		17400							17700	16400	

平均	SD	CV	系列ごと平均CV	MAX	MIN	MAX (対平均%)	MIN (対平均%)	RANGE %	系列ごと平均RANGE
		%	%	(μIU/ml)	(μIU/ml)	%	%	%	%
0.5	1.1			3.50	0.00				
7.9	1.4	18.4		11.20	5.40	42.0	-31.5	73.5	
15.9	2.5	15.4		19.90	11.00	24.9	-30.9	55.9	
31.3	4.2	13.5		37.20	22.00	18.8	-29.8	48.5	
60.5	7.6	12.5		68.70	45.00	13.5	-25.7	39.2	
121.1	25.0	20.7		144.50	78.12	19.3	-35.5	54.8	
246.8	38.6	15.6	17.4	282.50	180.00	14.5	-27.1	41.5	48.2
512.6	64.4	12.6		605.40	380.00	18.1	-25.9	44.0	
961	187	19.4		1200	651	24.8	-32.2	57.1	
1839	391	21.3		2448	1404	33.1	-23.7	56.8	
3649	997	27.3		4800	3056	31.5	-16.3	47.8	
7327	1452	19.8		9000	6393	22.8	-12.7	35.6	
16557	2018	12.2		18800	14890	13.5	-10.1	23.6	
0.7	2.0			6.50	0.00				
8.7	3.0	34.6		16.00	5.20	83.4	-40.4	123.8	
16.5	4.5	27.4		26.20	9.20	59.1	-44.2	103.2	
33.6	7.8	23.3		46.00	20.00	36.8	-40.5	77.3	
69.1	11.8	17.0		85.00	52.00	22.9	-24.8	47.7	
133.8	22.5	16.8		160.0	90.0	19.6	-32.7	52.3	
267.0	49.6	18.6	19.4	320.0	160.0	19.8	-40.1	59.9	58.7
533.8	105.0	19.7		647.0	330.0	21.2	-38.2	59.4	
1019	167	16.4		1261	650	23.7	-36.2	59.9	
2079	244	11.7		2423	1725	16.5	-17.1	33.6	
3929	756	19.2		4800	3451	22.2	-12.2	34.3	
7654	1168	15.3		9000	6901	17.6	-9.8	27.4	
16498	2107	12.8		18800	14665	14.0	-11.1	25.1	
0.6	1.3			4.32	0.00				
8.6	2.5	28.5		14.00	4.40	62.3	-49.0	111.3	
17.3	5.4	31.0		25.00	7.70	44.7	-55.4	100.1	
35.6	9.6	27.1		45.90	16.00	28.8	-55.1	83.9	
69.8	17.7	25.4		89.80	40.00	28.6	-42.7	71.3	
141.3	32.0	22.6		181.21	83.00	28.2	-41.3	69.5	
292.9	76.2	26.0	22.2	390.70	150.00	33.4	-48.8	82.2	66.7
570.1	142.2	24.9		760.70	310.00	33.4	-45.6	79.1	
1021	245	24.0		1396	600	36.8	-41.2	78.0	
2188	422	19.3		2730	1577	24.8	-27.9	52.7	
3792	632	16.7		4500	3285	18.7	-13.4	32.0	
7308	1116	15.3		8500	6288	16.3	-14.0	30.3	
17023	948	5.6		17700	15940	4.0	-6.4	10.3	
0.7	1.8			5.67	0.00				
9.3	3.8	40.7		17.90	4.20	91.6	-55.0	146.6	
17.7	5.9	33.1		27.60	8.10	56.1	-54.2	110.3	
36.5	11.2	30.7		50.00	16.00	37.0	-56.2	93.2	
70.4	19.8	28.1		91.70	34.00	30.2	-51.7	81.9	
145.5	40.9	28.1		186.00	65.00	27.9	-55.3	83.2	
288.7	76.8	26.6	24.4	356.00	140.00	23.3	-51.5	74.8	74.3
551.5	133.3	24.2		710.94	270.00	28.9	-51.0	80.0	
1101	318	28.9		1513	510	37.5	-53.7	91.2	
2335	588	25.2		3320	1521	42.2	-34.9	77.0	
4191	348	8.3		4400	3790	5.0	-9.6	14.6	
7419	1144	15.4		8600	6317	15.9	-14.9	30.8	
17167	681	4.0		17700	16400	3.1	-4.5	7.6	

添付資料７-２　評価用抗原測定値②

		コード	A	B	C	E	F	G	H	I	J	K	L	平均	SD	CV	系列ごと平均CV	MAX	MIN	MAX (対平均%)	MIN (対平均%)	RANGE %	系列ごと平均RANGE
評価用標準品			理論濃度 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)	測定結果 (mIU/ml)			%	%	(μIU/ml)	(μIU/ml)	%	%	%	%
系列(5)	Native HCG 緩衝液	1	0	0.00	0.000	4.4	0.0	0.0	0.00	0.00	0.3	1.82	0.927	0.2	0.7	1.3			4.38	0.00				
		2	8	11.07		19.1	13.7	15.2	10.07	10.89	7.4	9.64	9.005	5.2	11.1	4.0	35.9		19.10	5.20	71.6	-53.3	124.9	
		3	16	20.54		32.4	31.7	35.8	20.57	23.28	16.0	17.95	17.99	11	22.7	8.0	35.4		35.80	11.00	57.5	-51.6	109.1	
		4	31	40.52		55.7	54.1	61.7	41.75	46.14	32.6	31.305	33.455	22	41.9	12.5	29.9		61.70	22.00	47.2	-47.5	94.7	
		5	63	84.73		105.0	104.5	120.9	92.89	102.28	67.7	63.525	65.965	45	85.2	23.9	28.1		120.90	45.00	41.8	-47.2	89.0	
		6	125	171.83		204.0	241.5	259.6	173.80	196.48	135.7	139.3	153.05	87	176.2	51.6	29.3		259.60	87.00	47.3	-50.6	97.9	
		7	250	365.01		415.0	411.0	462.1	361.90	420.59	289.0	270.85	311.55	170	347.7	88.0	25.3	23.8	462.10	170.00	32.9	-51.1	84.0	74.1
		8	500	710.42		826.0	755.3	693.6	703.70	798.14	552.3	472.15	541.95	300	635.4	165.2	26.0		826.00	300.00	30.0	-52.8	82.8	
		9	1000	>1200	1200	1472.0	1430.3	1243.4	>1000	1601.80	997.2	1000	1153	640	1193	293.0	24.6		1602	640	34.3	-46.4	80.6	
		10	2000	>1200	2400	2959.0	3765.5	2222.3	>1000	3053.32	1974.4	1838	2084		2537	663.5	26.2		3766	1838	48.4	-27.6	76.0	
		11	4000		5000							4303	4774		4692	355.6	7.6		5000	4303	6.6	-8.3	14.9	
		12	8000		9700							7574	8543.5		8606	1064.4	12.4		9700	7574	12.7	-12.0	24.7	
		13	16000		20300							18850	21045		20065	1116.2	5.6		21045	18850	4.9	-6.1	10.9	
系列(6)	Native HCG ヒト血清	1	0		0.000	9.1	0.0	0.0	0.00	0.00	0.3	0.7895	0.139	0.1	1.0	2.8			9.06	0.00				
		2	8			22.7	14.3	15.7	10.30	10.67	8.1	9.725	9.615	5.4	11.8	5.1	43.0		22.70	5.40	91.8	-54.4	146.2	
		3	16			35.3	25.9	29.2	21.90	21.06	14.1	16.66	17.775	9.2	21.2	8.0	37.7		35.30	9.20	66.3	-56.7	122.9	
		4	31			61.5	53.1	59.7	44.39	45.01	30.3	33.295	36.935	18	42.5	14.3	33.8		61.50	18.00	44.8	-57.6	102.4	
		5	63			115.0	84.1	107.7	98.50	87.00	60.9	67.535	74.935	39	81.6	24.0	29.4		115.00	39.00	40.9	-52.2	93.1	
		6	125			234.0	184.7	203.2	184.40	186.29	134.0	131.05	151.9	76	165.1	47.0	28.5		234.00	76.00	41.8	-54.0	95.7	
		7	250			460.0	370.5	326.8	396.50	367.26	303.0	306.3	360.3	150	337.9	85.5	25.3	24.7	460.00	150.00	36.2	-55.6	91.8	78.4
		8	500			882.0	720.6	718.0	729.60	891.91	555.3	539.6	614.7	290	660.2	186.9	28.3		891.91	290.00	35.1	-56.1	91.2	
		9	1000		1200	1540.0	1572.1	1892.1	>1000	1474.50	1083.4	1080	1224.5	540	1290	387.3	30.0		1892	540	46.7	-58.1	104.8	
		10	2000		2500	2997.0	3167.2	3522.5	>1000	3081.92	2111.5	2147	2422		2744	518.7	18.9		3523	2112	28.4	-23.0	51.4	
		11	4000		4900							4360.5	4795.5		4685	286.1	6.1		4900	4361	4.6	-6.9	11.5	
		12	8000		9900							8234	9231		9122	838.4	9.2		9900	8234	8.5	-9.7	18.3	
		13	16000		20300							18510	20715		19842	1171.8	5.9		20715	18510	4.4	-6.7	11.1	
系列(7)	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ HCG 緩衝液	1	0	0.00	0.000	5.2	0.0	0.0	0.00	0.00	0.2	2.065	0.9335	0	0.8	1.6			5.19	0.00				
		2	8	43.49		49.8	54.8	53.1	40.99	42.31	37.1	34.175	29.99	26	41.2	9.6	23.3		54.80	26.00	33.1	-36.9	69.9	
		3	16	86.14		94.8	114.8	108.1	93.27	82.16	77.7	66.81	59.725	51	83.5	20.4	24.5		114.80	51.00	37.6	-38.9	76.5	
		4	31	190.78		178.0	199.9	188.2	174.20	160.06	155.6	133	123.65	100	160.3	32.5	20.3		199.90	100.00	24.7	-37.6	62.3	
		5	63	385.55		355.0	308.3	294.7	396.50	315.90	265.2	299.6	277.25	200	309.8	58.5	18.9		396.50	200.00	28.0	-35.4	63.4	
		6	125	773.89		678.0	618.2	583.9	660.60	679.74	589.3	566.3	524.25	410	608.4	99.6	16.4		773.89	410.00	27.2	-32.6	59.8	
		7	250	>1200		1345.0	1516.7	1439.0	>1000	1353.61	1048.8	1110	968.8	>800	1255	210.4	16.8	17.6	1517	969	20.9	-22.8	43.7	48.5
		8	500	>1200	2900	2597.0	>400	2187.3	>1000	2796.75	2281.8	2185.5	1928	>800	2411	359.0	14.9		2900	1928	20.3	-20.0	40.3	
		9	1000	>1200	5500	4898.0	4638.4	4513.3	>1000	5162.90	3619.9	4348.5	3488		4521	700.5	15.5		5500	3488	21.7	-22.9	44.5	
		10	2000	>1200	11000	9601.0	10171.4	9664.7	>1000	11566.74	8086.7	9044.5	7215.5		9544	1435.2	15.0		11567	7216	21.2	-24.4	45.6	
		11	4000		22700							20025	17555		20093	2573.2	12.8		22700	17555	13.0	-12.6	25.6	
		12	8000		44900							39565	33270		39245	5821.6	14.8		44900	33270	14.4	-15.2	29.6	
		13	16000									79225	64010		71618	10758.6	15.0		79225	64010	10.6	-10.6	21.2	
系列(8)	ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄ HCG ヒト血清	1	0		0.000	7.2	0.0	0.0	0.00	0.00	0.0	1.335	0.207	0	0.9	2.2			7.16	0.00				
		2	8																0.00	0.00				
		3	16			103.0	101.2	99.5	89.61	77.10	73.5	73.395	65.17	50	81.4	18.2	22.4		103.00	50.00	26.6	-38.6	65.1	
		4	31																0.00	0.00				
		5	63			394.0	372.1	355.4	384.50	312.06	276.1	301.7	273.75	180	316.6	68.5	21.6		394.00	180.00	24.4	-43.2	67.6	
		6	125																0.00	0.00				
		7	250			1287.0	1296.4	1282.7	>1000	1327.59	985.2	1104	999.4	650	1116.5	233.7	20.9	18.1	1327.59	650.00	18.9	-41.8	60.7	45.2
		8	500																0.00	0.00				
		9	1000		5400	5069.0	5371.0	5541.9		4655.58	3672.1	4786.5	3974.5	>800	4808.8	684.8	14.2		5541.90	3672.10	15.2	-23.6	38.9	
		10	2000																0.00	0.00				
		11	4000		22700							20490	17535		20242	2591	12.8		22700	17535	12.1	-13.4	25.5	
		12	8000		45500							39730	32540		39257	6493	16.5		45500	32540	15.9	-17.1	33.0	
		13	16000		OR							80075	61775		70925	12940	18.2		80075	61775	12.9	-12.9	25.8	

添付資料８　評価用抗原別各社相関

各系列のレベル1～7（250mIU/mL以下）のデータで評価した。

		コード	A	C	E	F	G	H	I	J	K	L
NIBSC（75/589）緩衝液	系列(1)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き	1.08	1.07	1.10	1.05	1.11	1.13	1.04	0.73	0.80	0.73
		切片	-1.59	2.88	-0.06	0.92	-2.99	-1.79	-0.85	2.10	0.46	0.09
		r2	0.9995	0.9999	0.9983	0.9987	0.9993	0.9998	0.9996	0.9880	0.9887	0.9988
		r	0.9997	1.0000	0.9991	0.9993	0.9996	0.9999	0.9998	0.9940	0.9943	0.9994
NIBSC（75/589）ヒト血清	系列(2)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き		1.25	1.24	1.23	1.13	1.11	1.02	0.92	1.04	0.65
		切片		5.91	1.32	0.51	-1.44	-3.03	-0.08	0.23	-1.10	2.25
		r2		0.9999	0.9993	0.9996	0.9999	0.9996	0.9995	0.9998	0.9998	0.9918
		r		0.9999	0.9997	0.9998	0.9999	0.9998	0.9997	0.9999	0.9999	0.9959
NIBSC(99/688) 緩衝液	系列(3)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き	1.29	1.31	1.54	1.49	1.18	1.42	0.92	0.98	0.94	0.61
		切片	-3.31	4.43	-5.53	-3.81	-1.37	-1.28	-1.00	-0.28	-1.69	-0.19
		r2	0.9993	0.9999	0.9943	0.9967	0.9998	0.9995	0.9996	0.9993	0.9987	0.9964
		r	0.9996	0.9999	0.9971	0.9984	0.9999	0.9997	0.9998	0.9996	0.9993	0.9982
NIBSC(99/688) ヒト血清	系列(4)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き		1.41	1.43	1.39	1.32	1.41	0.89	1.04	0.97	0.56
		切片		5.96	0.42	1.55	-4.45	-1.90	0.50	-0.75	-1.45	-1.02
		r2		0.9997	0.9998	0.9989	0.9985	0.9999	0.9990	0.9996	0.9996	0.9988
		r		0.9998	0.9999	0.9994	0.9993	0.9999	0.9995	0.9998	0.9998	0.9994
Native HCG 緩衝液	系列(5)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き	1.46	1.63	1.67	1.87	1.45	1.68	1.15	1.09	1.25	0.68
		切片	-3.51	4.41	4.39	4.86	-1.75	-4.06	-2.91	-0.13	-3.57	0.66
		r2	0.9990	0.9997	0.9928	0.9965	0.9995	0.9990	0.9991	0.9992	0.9984	0.9997
		r	0.9995	0.9999	0.9964	0.9983	0.9998	0.9995	0.9995	0.9996	0.9992	0.9999
Native HCG ヒト血清	系列(6)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き		1.81	1.47	1.32	1.58	1.48	1.21	1.21	1.43	0.60
		切片		6.38	1.03	13.33	-3.38	-1.58	-6.42	-4.31	-7.37	0.20
		r2		0.9997	0.9987	0.9846	0.9989	0.9997	0.9956	0.9946	0.9936	0.9998
		r		0.9999	0.9993	0.9923	0.9994	0.9998	0.9978	0.9973	0.9968	0.9999
ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄHCG 緩衝液	系列(7)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き	6.23	5.35	5.88	5.58	5.39	5.43	4.23	4.46	3.91	3.27
		切片	-5.65	9.84	-12.55	-11.95	9.30	-6.47	12.61	2.10	7.82	-1.35
		r2	0.9997	0.9999	0.9886	0.9884	0.9907	0.9996	0.9962	0.9995	0.9975	0.9997
		r	0.9999	1.0000	0.9943	0.9942	0.9954	0.9998	0.9981	0.9998	0.9988	0.9999
ﾘｺﾝﾋﾞﾅﾝﾄHCG ヒト血清	系列(8)の相関 レベル1～7 X:理論濃度 Y:測定値	傾き		5.06	5.13	5.09	6.14	5.33	3.91	4.40	3.98	2.58
		切片		31.20	20.23	16.07	-3.70	-9.57	12.12	8.43	6.90	7.95
		r2		0.9974	0.9988	0.9994	0.9995	0.9997	0.9992	0.9995	0.9995	0.9994
		r		0.9987	0.9994	0.9997	0.9998	0.9999	0.9996	0.9998	0.9997	0.9997

資料９　各系列の補正効果（検体別 CV%）

実検体		理論濃度	補正なし			補正あり								
						系列1	系列2	系列3	系列4	系列5	系列6	系列7	系列8	系列9
		(mIU/ml)	平均	SD	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)	CV (%)
区分A	105	2～20	2.8	1.3	46.4	51.0	50.2	55.8	59.7	59.5	61.1	51.3	54.6	43.8
	106		7.9	1.2	15.6	22.7	19.8	30.1	35.6	34.3	37.1	24.1	30.7	7.0
	107		16.0	2.3	14.2	18.6	13.7	24.4	28.8	28.1	29.9	19.5	24.9	3.0
	108		19.2	3.3	17.4	21.4	15.0	25.5	28.0	28.0	27.8	22.1	26.0	6.3
区分B	112	20～100	31.7	8.8	27.7	45.2	34.3	42.9	38.9	44.9	36.1	43.4	37.9	25.9
	113		30.3	4.3	14.1	18.7	10.5	19.1	22.2	24.0	24.3	15.2	17.5	8.8
	114		54.9	6.7	12.3	17.8	14.6	25.8	31.2	30.0	32.6	20.0	26.4	2.3
	115		83.7	8.7	10.4	19.2	15.2	25.8	30.2	30.0	31.2	21.0	25.2	3.5
	116		99.6	13.6	13.7	22.2	19.0	30.5	34.4	33.5	34.1	26.2	30.5	5.6
区分C	120	100～400	140.2	16.4	11.7	20.9	17.4	28.3	32.2	32.1	32.5	23.7	28.1	4.4
	121		152.8	40.7	26.7	26.9	26.3	37.4	39.3	38.4	36.2	32.9	39.3	18.4
	122		199.5	23.6	11.8	20.5	16.4	27.3	30.4	30.7	30.2	23.2	26.3	6.0
	123		245.5	31.4	12.8	18.2	19.8	31.2	36.8	34.9	37.3	25.1	32.3	8.6
	124		361.1	43.1	11.9	15.6	16.2	27.1	32.3	30.9	32.7	21.4	27.5	7.2
区分D	128	400～1000	401.1	53.2	13.3	21.7	16.0	27.1	30.9	30.6	31.5	23.4	27.0	5.6
	129		577.6	87.5	15.2	16.0	12.1	23.4	27.4	26.2	27.3	19.4	24.5	5.8
	130		618.3	104.4	16.9	21.0	12.8	21.9	22.0	24.0	20.8	21.5	21.6	10.3
	131		1272.6	192.3	15.1	15.4	12.3	20.7	24.1	23.7	24.3	17.9	23.6	8.9
	132		1036.1	137.3	13.3	18.0	13.8	23.2	27.3	27.0	28.3	19.3	26.0	7.1
区分E	136	1000～10000	1525.6	187.3	12.3	13.8	13.2	22.2	27.9	26.5	29.4	16.5	24.6	5.9
	137		1327.7	163.2	12.3	14.3	10.9	21.3	26.1	25.2	27.2	16.4	23.1	5.2
	138		3263.3	349.1	10.7	15.7	13.2	21.9	26.6	26.3	28.0	17.0	24.5	5.4
	139		2961.3	393.8	13.3	16.4	10.2	18.1	22.2	22.5	24.1	14.6	20.8	7.7
	140		4755.0	564.3	11.9	13.0	13.3	21.0	25.8	25.5	27.1	15.8	23.9	9.9
	141		6511.9	837.1	12.9	14.0	12.9	20.1	26.2	25.3	28.8	13.7	24.2	7.8
	142		8731.7	1248.1	14.3	12.8	12.7	17.9	23.8	23.4	26.5	12.9	21.6	12.3
			平均CV (%)		15.7	20.4	17.0	26.5	30.4	30.2	31.0	22.2	27.4	9.3

２－４－２－１６　α-フェトプロテイン（AFP）

要旨

１）標準物質候補品を使用して各社試薬のデータの収束性について検証すると共に、実際の臨床検体を測定し、測定値間差の現状把握を行った。

２）各社試薬の値付けの根拠について調査したところ、17 社中 11 社の試薬において国際標品に基づいた値付けを行っていることが示された。

３）標準物質候補品での共同実験の結果より、殆どの試薬で血清系と Buffer 系での反応性差は見られなかった。また、標準物質候補品の測定結果はキット間差が少なく、収束傾向が見られた。

４）臨床検体を用いた共同実験の結果より、各社試薬の測定値は現状でも概ね収束していた。

５）標準物質候補品の測定結果を基に各社試薬の臨床検体測定値を校正して測定値是正の検証を行ったが、逆に収束度が悪化した。

６）各社試薬で共通に使用できるマトリックスを設定する必要性が示唆された。新鮮血清の使用が最も好ましいと考えられるが、調整条件及び保存方法等の更なる検証が必要である。

７）今後、共通に使用できるマトリックスを設定するためには、検査薬メーカー主体の WG ではなく、コントロール血清等を製造するﾒｰｶｰの技術担当者等を加えた WG にシフトしていく必要があると思われる。

１．目的

α-フェトプロテイン（AFP）は C9WG 調査研究対象項目中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 2（基準①-B)」に属する。

本 WG（AFP）では、基準となる標準品及びベースを共通化して推奨できる標準品の選定を行っていくと共に、実際の臨床検体と各社測定試薬を用いて測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。

２．委員会の構成

メンバーの構成を下記に記す。但し、WG発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
AFP 実行計画作成者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学医学部附属病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	小谷　至彦	ｱﾙﾌﾚｯｻﾌｧｰﾏ株式会社
技術担当者	土居　洋介	ｱﾙﾌﾚｯｻﾌｧｰﾏ株式会社
技術担当者	藤本　栄樹	株式会社ｴｲｱﾝﾄﾞﾃｨｰ
技術担当者	阪崎　伸一郎	栄研化学株式会社
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社
技術担当者	大西　純	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	御子柴　浩	ｵﾘﾝﾊﾟｽ株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	山﨑　忠	ﾃﾞﾝｶ生研株式会社
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	藤井　淳一	日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ株式会社
技術担当者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/14（月）　13：00～16：30　（臨薬協会議室）
第２回会合：2006/ 3/ 9（木）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/ 6/12（月）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/ 7/ 7（金）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/10/30（月）　13：00～14：00　（臨薬協会議室）
第６回会合：2007/ 2/23（金）　14：00～17：00　（臨薬協会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

AFP には WHO 推奨国際標品が存在し、NIBSC より「The 1st International Standard for AFP (originally coded 72/225)」として発売されている。この国際標品と各社試薬の「Std 値付け」との関係について調査を行い、表１の通りの回答が得られた。

表１：‘05/11 実施アンケート「Std 値付けについて」の結果（回答数：17 社）

標品として使用の物質名	WHO 72/225 11 社	自社校正品 3 社	国内標準 2 社	その他(*) 1 社
測定方法	各社基準測定法 16 社			その他(*) 1 社

(*)　現在試薬開発中であるため回答できず

４－２　標準化および標準物質の設定経過

４－１で示したとおり、殆どの試薬で WHO72/225 に基づいた値付けを行っている。その為、今回の共同実験では WHO72/225 を使用することが好ましかったが、発売中止に伴い入手することができなかった。また、国内標準品についても同様であった。

以上の経緯より、今回の共同実験では IRMM の Purified alphafoetprotein (AFP) BCR-486 と DAKO 社製 Alpha-1-Fetoprotein(AFP) X0900 を共通の測定対象物質とし、その適用性を評価した。

４－３　値付けの測定方法の選択

本年度の活動においては、４－２に示した２種の測定対象物質を表示値通りに希釈して使用しており、詳細な値付けは未実施である。

５．標準物質の設定概要

５－１実験計画書

添付資料１「AFP 共同実験プロトコル」参照

５－２共同実験

５－２－１　測定試料

① IRMM の Purified alphafoetprotein (AFP) (code:BCR-486)、② DAKO 社製 Alpha-1-Fetoprotein(AFP) (code:X0900)、③国立がんセンター中央病院臨床検査部より入手した臨床検体を使用した。

①②については、それぞれ表示値をもとに 0、20、50、200、400ng/mL となるように 2 種類のマトリックスで希釈して使用した。マトリックスには血清ベースとして、Biospacific 社 AFP フリー血清、バッファベースとして 1% BSA 含有 0.1M ﾄﾘｽ-塩酸緩衝液(pH7.5)を選択した。

③については、国立がんセンターに予め依頼した濃度域(0～10ng/mL、10～100ng/mL、100～

200ng/mL、200～1000ng/mL)別に入手した臨床検体を、濃度域ごとに必要量ﾌﾟｰﾙして使用した。なお検討に用いた臨床検体は、「JCCLS 標準化基本検討委員会 柱 1:臨床検査用標準物質の研究開発で測定するヒト検体についての見解(2006 年 1 月 10 日)」に従って参加企業へ配布した。

５－２－２　測定方法

参加企業は各試薬およびキャリブレーターを使用して、2 重測定以上の測定を実施し、平均値もしくは中間値を算出した。結果は三洋化成工業株式会社が回収し、解析を実施した。

５－２－３　測定結果

①IRMM 標品系列の表示値に対する相関

IRMM 標品血清マトリックスサンプル及びBuffer マトリックスサンプルの各社測定結果より、表示値に対する相関性を算出した。結果は表２の通りである。併せて、相関図を「添付資料 2」に示す。

表2：IRMM標品系列測定結果

試薬No.	IRMM： 血清ﾏﾄﾘｯｸｽの傾き	IRMM： Bufferﾏﾄﾘｯｸｽの傾き	ﾏﾄﾘｯｸｽ間差 (血清-Buffer)
AFP-1	0.710	0.710	-0.001
AFP-2	0.732	0.785	-0.053
AFP-3	0.799	0.825	-0.025
AFP-4	0.922	0.881	0.042
AFP-5	0.684	0.740	-0.056
AFP-6	0.649	0.690	-0.040
AFP-7	0.608	0.604	0.004
AFP-8	0.755	0.729	0.026
AFP-9	0.862	0.781	0.081
AFP-10	0.694	0.699	-0.005
AFP-11	0.564	0.590	-0.025
AFP-12	0.572	0.527	0.045
AFP-13	0.616	0.700	-0.084
AFP-14	0.618	0.628	-0.010
AFP-15	0.722	0.715	0.007
AFP-16	0.747	0.683	0.064
AFP-17	0.714	0.685	0.028
AFP-18	0.545	0.622	-0.077
AFP-19	0.782	0.815	-0.033
AFP-20	0.772	0.775	-0.002
AFP-21	0.701	0.661	0.041
全社の平均値	0.703	0.707	
全社のCV	13.8%	12.1%	
全社のMAX	0.922	0.881	
全社のMIN	0.545	0.527	
MAX-MIN	0.377	0.353	

何れのマトリックスでも全体のばらつきは12～13%程度であり、収束傾向が見られた。また、両者の傾きの差をマトリックス間差とすると何れの試薬でも 10%以下あった。測定結果の平均値を比較すると、両者の差は殆ど見られなかった。これらの結果より、今回検討した IRMM 標品系列は、何れにおいても収束性の高いサンプルであることが示唆された。

②DAKO 抗原系列の表示値に対する相関

DAKO 抗原系列血清マトリックスサンプル及び Buffer マトリックスサンプルの各社測定結果より、表示値に対する相関性を算出した。結果は表３の通りである。併せて、相関図を「添付資料 3」

に示す。

表3：DAKO標品系列測定結果

試薬No.	DAKO抗原： 血清ﾏﾄﾘｯｸｽの傾き	DAKO抗原： Bufferﾏﾄﾘｯｸｽの傾き	ﾏﾄﾘｯｸｽ間差 (血清-Buffer)
AFP-1	0.748	0.738	0.010
AFP-2	0.885	0.848	0.037
AFP-3	0.846	0.821	0.024
AFP-4	0.859	0.870	-0.011
AFP-5	0.750	0.779	-0.029
AFP-6	0.618	0.467	0.151
AFP-7	0.579	0.581	-0.003
AFP-8	0.655	0.560	0.095
AFP-9	0.914	0.875	0.039
AFP-10	0.721	0.679	0.041
AFP-11	0.594	0.626	-0.033
AFP-12	0.580	0.526	0.053
AFP-13	0.674	0.712	-0.039
AFP-14	0.681	0.684	-0.003
AFP-15	0.655	0.649	0.006
AFP-16	0.758	0.675	0.083
AFP-17	0.737	0.708	0.029
AFP-18	0.605	0.612	-0.007
AFP-19	0.776	0.789	-0.013
AFP-20	0.823	0.806	0.017
AFP-21	0.684	0.700	-0.017
全社の平均値 全社のCV 全社のMAX 全社のMIN MAX-MIN	0.721 14.2% 0.914 0.579 0.336	0.700 16.2% 0.875 0.467 0.408	

IRMM 標品系列の場合と同様に、何れのマトリックスも全体のばらつきは 14～16%程度であり、収束傾向が見られた。また両者の傾きの差をマトリックス間差とすると、1 試薬を除き 10%以下あった。測定結果の平均値を比較すると、両者の差は殆ど見られなかった。これらの結果より、今回検討した DAKO 抗原系列は、何れにおいても収束性の高いサンプルであることが示唆された。また、先の IRMM 標品系列の結果と合わせると、AFP は抗原に由来する反応性差も少ない項目であると考えられた。

③プール検体での血清相関の解析

実検体より作製したプール検体の各社測定結果より、各社測定値の平均値に対する相関性を算出した。結果は表 4 の通りである。併せて、相関図を「添付資料 4」に示す。

表4：ﾌﾟｰﾙ検体測定結果

試薬No.	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体の傾き
AFP-1	1.127
AFP-2	1.118
AFP-3	1.032
AFP-4	1.089
AFP-5	0.894
AFP-6	0.716
AFP-7	1.237
AFP-8	0.784
AFP-9	1.135
AFP-10	0.955
AFP-11	1.051
AFP-12	1.043
AFP-13	0.916
AFP-14	0.922
AFP-15	1.076
AFP-16	1.033
AFP-17	1.090
AFP-18	0.863
AFP-19	0.991
AFP-20	1.082
AFP-21	0.846
全社の平均値 全社のCV 全社のMAX 全社のMIN MAX-MIN	1.000 13.0% 1.237 0.716 0.521

全体のばらつきは 13%程度であり、IRMM 標品系列及び DAKO 抗原系列の場合と同様に収束傾向が見られた。ただし、最大値と最小値の差は 0.521 となり、IRMM 標品系列及び DAKO 抗原系列の場合よりも、差が大きい結果となった。

④測定値間差是正の検証

実検体での収束度合いが標品系列での収束度合いに及ばなかった為、IRMM 標品系列及び DAKO 抗原系列の測定結果を基に、患者プール検体測定結果の校正を試みた。校正方法は、以下の通りである。

(1) IRMM 標品系列及び DAKO 抗原系列の各マトリックスの相関傾きを、各社試薬の校正係数とした。

(2) 各社試薬の患者プール血清測定値をそれぞれの校正係数で除した値を、校正後測定値とした。

(3) 得られた校正後測定値を集計し、回帰計算を行った。

回帰計算結果を表５に示す。さらに校正前後での傾きの解離度合いを算出し、各社試薬の校正効果を個別に判定した。また、校正後の相関図を「添付資料 7」、「添付資料 8」に示す。

表5：較正効果の確認

試薬No.	較正前ﾌﾟｰﾙ検体傾き	較正前の乖離幅	IRMM血清・ﾏﾄﾘｯｸｽで較正後			IRMMBuffer・ﾏﾄﾘｯｸｽでの較正		
			較正後の傾き	較正後の乖離幅	効果判定	較正後の傾き	較正後の乖離幅	効果判定
AFP-1	1.127	0.127	1.101	0.101	○	1.106	0.106	○
AFP-2	1.118	0.118	1.059	0.059	○	0.993	0.007	○
AFP-3	1.032	0.032	0.895	0.105	×	0.873	0.127	×
AFP-4	1.089	0.089	0.819	0.181	×	0.863	0.137	×
AFP-5	0.894	0.106	0.910	0.090	○	0.846	0.154	×
AFP-6	0.716	0.284	0.764	0.236	○	0.724	0.276	○
AFP-7	1.237	0.237	1.411	0.411	×	1.427	0.427	×
AFP-8	0.784	0.216	0.720	0.280	×	0.750	0.250	×
AFP-9	1.135	0.135	0.912	0.088	○	1.013	0.013	○
AFP-10	0.955	0.045	0.954	0.046	×	0.952	0.048	×
AFP-11	1.051	0.051	1.292	0.292	×	1.243	0.243	×
AFP-12	1.043	0.043	1.264	0.264	×	1.379	0.379	×
AFP-13	0.916	0.084	1.032	0.032	○	0.913	0.087	×
AFP-14	0.922	0.078	1.034	0.034	○	1.024	0.024	○
AFP-15	1.076	0.076	1.034	0.034	○	1.050	0.050	○
AFP-16	1.033	0.033	0.958	0.042	×	1.054	0.054	×
AFP-17	1.090	0.090	1.059	0.059	○	1.109	0.109	×
AFP-18	0.863	0.137	1.097	0.097	○	0.967	0.033	○
AFP-19	0.991	0.009	0.878	0.122	×	0.848	0.152	×
AFP-20	1.082	0.082	0.971	0.029	○	0.974	0.026	○
AFP-21	0.846	0.154	0.836	0.164	×	0.893	0.107	○
全社の平均値	1.000		1.000			1.000		
全社のCV	13.0%		17.2%		○：11	18.1%		○：9
全社のMAX	1.237		1.411		×：10	1.427		×：12
全社のMIN	0.716		0.720			0.724		
MAX-MIN	0.521		0.690			0.704		

DAKO抗原血清ﾏﾄﾘｯｸｽで較正後			DAKO抗原Bufferﾏﾄﾘｯｸｽで較正後		
較正後の傾き	較正後の乖離幅	効果判定	較正後の傾き	較正後の乖離幅	効果判定
1.071	0.071	○	1.051	0.051	○
0.898	0.102	○	0.907	0.093	○
0.867	0.133	×	0.865	0.135	×
0.902	0.098	×	0.862	0.138	×
0.851	0.149	×	0.793	0.207	×
0.824	0.176	○	1.056	0.056	○
1.520	0.520	×	1.466	0.466	×
0.852	0.148	○	0.964	0.036	○
0.882	0.118	○	0.892	0.108	○
0.942	0.058	×	0.967	0.033	○
1.260	0.260	×	1.156	0.156	×
1.280	0.280	×	1.365	0.365	×
0.966	0.034	○	0.885	0.115	×
0.963	0.037	○	0.927	0.073	○
1.168	0.168	×	1.141	0.141	×
0.969	0.031	○	1.053	0.053	×
1.051	0.051	○	1.060	0.060	○
1.013	0.013	○	0.970	0.030	○
0.907	0.093	×	0.864	0.136	×
0.934	0.066	○	0.923	0.077	○
0.880	0.120	○	0.832	0.168	×
1.000			1.000		
17.5%		○：12	17.0%		○：10
1.520		×：9	1.466		×：11
0.824			0.793		
0.696			0.672		

何れの場合においても校正前の結果より収束が悪くなり、校正の効果が見られなかった。校正効果を各社試薬毎に見ると、効果の現れる試薬と現れない試薬の差が明確となった。実検体に対する挙動と、IRMM 標品系列及び DAKO 抗原系列に対する挙動が試薬毎に少しずつ異なっていることが原因と思われる。

⑤共同実験結果の考察

今回の共同実験では、共通に使用できる標品の設定が困難であった。特に、実検体に挙動が近いと推定された血清マトリックスでも、実検体での血清相関を校正する事ができず、逆に収束度を悪化させる結果となった。同じ血清系においても、実検体と検討に使用した血清マトリックスとでの反応性差が現れた形となった。

このような結果の原因としては、血清マトリックスに使用したベース血清に問題があると思われる。ベース血清には BiosPacific 社製の AFPfreeSerum を用いたが、AFP を除去する工程及び脱脂工程等が施されている（工程の詳細は不明）。その為、これら人工的な処理によって実検体との差が生じたと推定される。

各社測定試薬は新鮮な実検体をベースに測定系を構築し、他社試薬との相関性データを得ている。共通に使用できるマトリックスを設定する為には、限りなく実検体に近いマトリックス状態もしくは実検体そのものを使用することが好ましいと思われた。

６．標準物質の作製プロトコル

６－１トレーサビリティ連鎖、６－２試料の性状規格、６－３値付けの方法

実検体に近いマトリックス状態の標品を上位とするトレーサビリティ体系図が最も適切な候補として挙げられる。しかし、今回の共同実験では適切なマトリックスを設定するまでには至らなかった為、標準物質の作製プロトコルを提言することは難しい。

７．今後の課題

今後の課題としては、各社試薬で共通に使用できるマトリックスを設定する必要性が挙げられる。共同実験の結果より新鮮血清の使用が最も好ましいと考えられるが、採血直後のマトリックス状態を落とすことなく調製する方法及び保存方法等の設定が十分に検証されていない。また、使用する新鮮血清の入手方法やﾛｯﾄ間差、必要量等の問題もあり、これらヒト由来原料に対する取扱方法を整理していくのも、今後の大きな課題である。

これらの課題を解決する為には、血清の処理等に技術を持つ原料メーカーや市販のコントロール試薬を製造しているメーカーの技術担当者等を WG に組み入れ、検査薬メーカーと協力して活動を行っていく必要がある。

８．結び

今回、21 試薬を用いて試薬間差を検証したところ、平均値に対する相関傾きのばらつきは 13%程度であったが、最大値と最小値の差は 0.521 であった。この測定値差に対して、IRMM 標品系列（血清マトリックスと Buffer マトリックス）及び DAKO 抗原系列（血清マトリックスと Buffer マトリックス）を用いて是正を試みたが、収束度合いは逆に悪化した。今回検証した標準物質候補品では、是正は困難であった。

IRMM 標品系列と DAKO 抗原系列の測定結果を比較すると、何れも原液表示値に対して 70%程度であり、両者における抗原性差は見られなかった。また、殆どの試薬で血清系と Buffer 系で

の反応性差は見られなかった。実検体の結果と併せて考えると、各社試薬で共通に使用できるマトリックスを設定する必要性が示唆された。新鮮血清の使用が最も好ましいと考えられるが、調整条件及び保存方法等の更なる検証が必要である。

本WGの目的である標準化を達成していく為には、単純に測定結果だけを議論するのではなく、標準化を実現する為に必要な材料、とりわけヒト由来原料の取扱についても十分に議論されなければならない。その為には現在の検査薬メーカー主体のWG員だけでなく、コントロール血清製造メーカー等の技術担当者を含めた活動にシフトしていかなければならない。

９．謝辞

今回の活動に必要な臨床検体をご提供いただきました、国立がんセンター中央病院病院長）土屋了介先生及び臨床検査部長古田耕先生に厚く御礼申し上げます。

10.【宿題事項】

要旨

１）本項目の今年度の活動報告内容は2007年2月に最終報告書として提出しているが、宿題事項として、臨床検体測定値からの収束性解析を実施した。

２）臨床検体26例の全測定値が全試薬の中央値に対して80～120%であり、標準品サンプルの測定値も平均的な4試薬を代表試薬として選出した。選出した試薬より臨床検体の基準値を算出し、相関性と標品による較正効果を検証した。

３）臨床検体26例の基準値に対して80～120%の範囲に収まる試薬は、全試薬中の約86%（21試薬中18試薬）であった。

４）標品による較正では収束が図れず、実検体が較正に最も適していることを示す結果となった。

１．目的

JCCLS柱1項目群WGC9（腫瘍マーカー群）の一項目であるAFPについて、本年度の調査活動として、①IRMMのPurified alphafetoprotein (AFP) BCR-486（以下、IRMM標品とする）と②DAKO社製Alpha-1-Fetoprotein(AFP) X0900（以下、DAKO抗原とする）、③臨床検体26例を各社試薬において測定し、データの収束性や標準化の可能性について検証を行った。その結果については2007年2月に、最終報告書を提出しているが、第6回会合（2007年2月23日実施）において宿題事項として挙げられた、臨床検体測定値からの追加解析を実施したので本書にて報告する。

２．追加解析の概要

２－１　臨床検体測定値からの試薬分類

表１．に、各社試薬での臨床検体（No.A-21~A-46）の測定値と、各検体の中央値に対する比を示した。最も標準的な試薬群として、26検体全てが中央値に対して90～110%の範囲内である試薬と定義する（これを「第一群」とする）と、１試薬が該当し、これに準じる試薬群として、26例全てが中央値に対して80～120%の範囲内となる試薬（第一群を除く）と定義する（これを「第

二群」とする）と、８試薬が該当した。これ以外の試薬は、26 例中少なくとも１例の測定値が、中央値に対して 80%～120%の範囲外となった。

第一群、第二群試薬の総数は９試薬であり、参加試薬数（21 試薬）の約 43%であった。

＜表１．各社試薬の臨床検体測定値と中央値に対する比＞

[検体測定値]

検体No.	全社ﾒｼﾞｱﾝ	AFP-1	AFP-2	AFP-3	AFP-4	AFP-5	AFP-6	AFP-7	AFP-8	AFP-9	AFP-10	AFP-11	AFP-12	AFP-13	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18	AFP-19	AFP-20	AFP-21
A-21	820.3	909.9	856.6	820.3	846.5	696.6	581.9	1,002.6	646.0	838.9	742.0	856.5	829.9	733.5	711.7	876.6	794.8	853.4	667.2	766.2	842.0	645.5
A-22	528.0	550.4	582.7	519.1	555.2	467.4	342.3	626.6	378.0	635.0	501.9	530.7	544.3	477.0	495.5	493.7	538.9	564.9	459.6	528.0	567.6	449.1
A-23	394.5	415.2	443.1	414.2	413.0	344.6	278.7	449.1	277.9	446.7	364.2	393.7	384.3	351.5	355.5	411.4	404.0	420.5	338.5	394.5	417.2	337.0
A-24	319.0	336.6	390.8	322.3	341.3	284.3	243.0	375.0	225.1	372.0	312.9	292.6	307.3	241.3	294.4	355.7	348.9	352.2	271.3	319.0	348.2	291.8
A-25	261.5	272.1	290.9	243.5	281.5	239.1	189.1	283.5	200.1	320.3	261.5	244.1	258.2	202.6	254.0	291.9	293.1	287.8	232.9	264.9	287.6	235.1
A-26	221.0	269.5	255.0	225.3	213.2	206.7	205.4	238.4	171.1	261.1	211.0	193.2	221.0	168.7	213.5	252.2	241.6	245.7	194.1	226.0	230.4	186.1
A-27	179.5	196.0	192.1	189.2	168.6	165.1	168.6	195.5	136.6	197.8	172.2	161.3	182.1	130.1	168.7	194.0	190.7	196.7	161.2	179.5	184.2	160.0
A-28	146.6	161.7	164.9	147.9	132.1	122.1	126.4	154.3	108.1	155.5	139.0	135.4	148.7	105.7	137.2	160.0	151.5	155.6	123.4	147.3	146.6	129.9
A-29	145.1	164.2	155.3	154.8	130.2	127.0	112.9	153.1	108.0	151.8	135.8	137.0	153.4	106.7	134.3	154.0	145.1	156.8	123.8	145.5	146.0	129.0
A-30	118.6	121.1	132.5	115.5	103.4	100.8	98.0	130.2	86.9	123.5	110.4	118.6	119.4	88.3	111.9	128.5	123.9	125.8	101.8	121.5	119.2	98.5
A-31	119.8	124.1	135.0	119.8	105.3	103.2	99.7	130.3	81.2	121.0	109.9	113.7	122.1	87.2	111.7	129.6	123.6	129.3	102.2	121.1	120.3	107.3
A-32	88.5	91.9	98.8	88.7	78.5	77.2	68.7	100.4	63.4	87.3	83.9	88.5	95.2	65.9	86.7	101.0	95.0	97.8	80.2	91.1	92.3	77.0
A-33	64.9	64.9	70.6	65.8	58.5	55.5	55.1	74.4	47.6	65.1	63.5	64.1	69.4	43.4	63.4	70.9	67.1	72.3	56.1	66.7	67.6	59.9
A-34	40.4	39.2	40.9	44.0	31.3	37.4	34.9	46.9	29.6	40.0	40.1	40.4	44.1	31.5	41.2	45.8	42.8	45.6	36.5	44.1	43.4	37.4
A-35	39.1	39.0	41.7	40.0	31.8	35.5	35.3	45.1	30.4	39.7	39.1	39.0	41.8	26.9	38.7	45.1	42.8	46.2	35.7	42.5	42.3	34.3
A-36	31.4	30.9	32.9	34.8	24.0	29.1	30.5	35.0	22.8	29.9	31.6	31.4	31.5	23.4	31.1	35.9	33.3	34.9	27.7	32.5	34.0	26.9
A-37	27.9	27.8	28.9	31.8	20.9	25.1	23.9	34.2	21.8	26.7	27.9	27.1	28.7	19.5	28.0	32.8	30.6	32.3	24.9	29.6	31.7	25.8
A-38	24.3	24.0	26.0	26.9	16.7	22.3	27.7	29.1	19.9	22.8	24.3	24.0	22.9	16.0	24.8	27.8	26.0	28.4	22.3	25.8	26.3	20.9
A-39	26.7	26.7	29.2	29.9	19.9	24.6	25.8	32.4	21.8	25.6	27.3	26.3	26.1	17.7	27.5	32.0	27.2	31.2	24.5	29.6	27.8	23.5
A-40	17.3	17.5	17.7	20.0	9.0	13.9	18.5	22.3	13.4	15.7	16.9	16.6	15.0	12.1	17.3	18.9	18.5	19.1	16.0	19.3	18.3	14.6
A-41	16.3	17.2	16.3	18.5	9.2	14.6	20.1	18.5	12.4	14.7	15.5	16.0	14.7	12.6	16.6	17.1	17.6	18.6	15.3	20.0	17.5	14.3
A-42	4.4	4.7	4.5	5.1	0.0		9.7	5.1	3.5	3.5	4.2	4.3	2.8	5.1	4.4	4.2	5.0	5.0	4.5	6.8	4.3	3.2
A-43	3.4	3.6	3.4	4.0	0.4		6.8	4.4	2.4	2.8	3.2	3.5	2.0	4.8	3.4	2.8	4.0	3.7	3.4	5.0	2.5	2.9
A-44	3.7	3.8	3.7	4.2	0.0		9.7	4.8	2.5	3.1	3.5	3.4	2.3	5.0	3.5	3.8	4.0	4.1	3.3	5.5	4.1	2.8
A-45	4.8	5.1	4.7	5.3	0.0		11.6	5.7	3.7	3.9	4.4	4.8	3.3	5.3	4.7	4.6	5.2	5.4	4.4	7.1	6.2	3.8
A-46	4.0	4.2	3.9	4.7	0.0		9.3	5.2	2.8	3.3	3.9	4.2	2.5	4.1	4.0	3.9	4.7	4.4	3.7	6.0	5.2	3.2

[全社ﾒｼﾞｱﾝに対する各社測定値比]

全体通しNo.		AFP-1	AFP-2	AFP-3	AFP-4	AFP-5	AFP-6	AFP-7	AFP-8	AFP-9	AFP-10	AFP-11	AFP-12	AFP-13	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18	AFP-19	AFP-20	AFP-21
A-21		111%	104%	100%	103%	85%	71%	122%	79%	102%	90%	104%	101%	89%	87%	107%	97%	104%	81%	93%	103%	79%
A-22		104%	110%	98%	105%	89%	65%	119%	72%	120%	95%	101%	103%	90%	94%	93%	102%	107%	87%	100%	107%	85%
A-23		105%	112%	105%	105%	87%	71%	114%	70%	113%	92%	100%	97%	89%	90%	104%	102%	107%	86%	100%	106%	85%
A-24		106%	123%	101%	107%	89%	76%	118%	71%	117%	98%	92%	96%	76%	92%	112%	109%	110%	85%	100%	109%	91%
A-25		104%	111%	93%	108%	91%	72%	108%	77%	122%	100%	93%	99%	77%	97%	112%	112%	110%	89%	101%	110%	90%
A-26		122%	115%	102%	96%	94%	93%	108%	77%	118%	95%	87%	100%	76%	97%	114%	109%	111%	88%	102%	104%	84%
A-27		109%	107%	105%	94%	92%	94%	109%	76%	110%	96%	90%	101%	72%	94%	108%	106%	110%	90%	100%	103%	89%
A-28		110%	112%	101%	90%	83%	86%	105%	74%	106%	95%	92%	101%	72%	94%	109%	103%	106%	84%	100%	100%	89%
A-29		113%	107%	107%	90%	87%	78%	106%	74%	105%	94%	94%	106%	74%	93%	106%	100%	108%	85%	100%	101%	89%
A-30		102%	112%	97%	87%	85%	83%	110%	73%	104%	93%	100%	101%	74%	94%	108%	104%	106%	86%	102%	100%	83%
A-31		104%	113%	100%	88%	86%	83%	109%	68%	101%	92%	95%	102%	73%	93%	108%	103%	108%	85%	101%	100%	89%
A-32		104%	112%	100%	89%	87%	78%	114%	72%	99%	95%	100%	108%	74%	98%	114%	107%	111%	91%	103%	104%	87%
A-33		100%	109%	101%	90%	85%	85%	115%	73%	100%	98%	99%	107%	67%	98%	109%	103%	111%	86%	103%	104%	92%
A-34		97%	101%	109%	77%	92%	86%	116%	73%	99%	99%	100%	109%	78%	102%	113%	106%	113%	90%	109%	107%	92%
A-35		100%	107%	102%	81%	91%	90%	115%	78%	101%	100%	100%	107%	69%	99%	115%	109%	118%	91%	109%	108%	88%
A-36		99%	105%	111%	76%	93%	97%	112%	73%	95%	101%	100%	100%	75%	99%	114%	106%	111%	88%	104%	108%	86%
A-37		100%	103%	114%	75%	90%	86%	123%	78%	96%	100%	97%	103%	70%	100%	118%	110%	116%	89%	106%	114%	92%
A-38		99%	107%	111%	69%	92%	114%	120%	82%	94%	100%	99%	94%	66%	102%	114%	107%	117%	92%	106%	108%	86%
A-39		100%	109%	112%	75%	92%	97%	122%	82%	96%	102%	99%	98%	66%	103%	120%	102%	117%	92%	111%	104%	88%
A-40		101%	102%	115%	52%	80%	107%	129%	78%	91%	98%	96%	87%	70%	100%	110%	107%	110%	92%	112%	106%	85%
A-41		105%	100%	113%	56%	89%	123%	114%	76%	90%	95%	98%	90%	77%	102%	105%	108%	114%	94%	123%	107%	88%
A-42		107%	101%	114%	0%		218%	115%	79%	79%	95%	97%	63%	115%	100%	94%	113%	113%	100%	153%	97%	71%
A-43		104%	99%	118%	11%		197%	127%	70%	83%	93%	101%	58%	140%	101%	83%	117%	108%	99%	147%	73%	84%
A-44		102%	98%	113%	0%		261%	130%	67%	82%	94%	91%	62%	134%	93%	102%	107%	110%	90%	147%	110%	76%
A-45		108%	99%	111%	0%		243%	120%	78%	82%	92%	101%	69%	111%	99%	97%	109%	114%	92%	149%	130%	80%
A-46		104%	97%	116%	0%		230%	129%	70%	82%	96%	104%	62%	101%	99%	97%	116%	109%	90%	148%	128%	79%

群分類			第２群		第２群					第１群	第２群			第２群	第２群	第２群	第２群	第２群			

２－２　代表試薬の選出

臨床検体測定値からの較正を試みるに際し、較正の基準となる各検体の測定値を決める必要がある。そこで、代表となる試薬を選出し、その各検体の平均値を基準値とすることにした。２－１で「第一群及び第二群」として分類した９試薬の、IRMM 標品、及び DAKO 抗原試料の測定値について表２に示した。

＜表２．各社試薬の標品測定値と中央値に対する比＞

[標品測定値]

検体通しN	検体名	全社ﾒｼﾞｱﾝ	AFP-3	AFP-5	AFP-10	AFP-11	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18
A-1	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL	0.0			0.0	0.0			0.0	0.0	0.1
A-2	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL	13.0	17.0	13.0	13.6	13.0	12.7	16.2	13.9	13.8	10.9
A-3	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL	32.6	42.0	32.0	34.3	32.6	32.3	38.5	33.1	36.4	27.0
A-4	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/mL	139.9	165.1	131.5	137.1	125.5	123.4	147.3	143.5	140.6	107.9
A-5	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/mL	281.0	320.8	272.7	277.6	224.8	248.2	290.6	298.5	286.0	218.2
A-6	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL	0.0			0.0	0.0			0.0	0.0	0.1
A-7	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL	13.2	17.5	12.5	13.0	13.5	13.2	15.8	12.6	13.8	12.0
A-8	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL	34.5	41.5	35.8	34.5	34.3	32.3	39.6	32.0	35.1	30.0
A-9	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/n	140.7	161.1	144.7	136.7	135.4	128.4	153.5	132.2	140.7	124.1
A-10	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/n	280.5	331.2	294.3	279.8	233.9	251.6	287.4	273.2	273.5	
A-11	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/	0.0			0.0	0.0			0.0	0.0	0.1
A-12	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng	13.8	18.0	13.9	14.6	11.3	14.4	13.7	14.0	15.0	11.9
A-13	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng	35.8	41.9	37.4	36.5	29.5	35.8	34.7	35.6	37.6	32.7
A-14	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:200n	150.0	167.1	158.2	146.0	118.5	139.1	133.5	152.0	151.1	131.7
A-15	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:400r	288.1	339.1	298.0	288.1	237.2	273.3	263.1	301.7	294.3	240.3
A-16	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng	0.0			0.0	0.0			0.0	0.0	0.1
A-17	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:20	13.6	18.0	17.0	13.6	12.1	14.7	13.4	12.8	14.3	12.6
A-18	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:50	35.4	41.2	37.4	35.5	32.3	35.4	33.1	32.0	36.0	30.7
A-19	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:200	140.9	159.6	160.7	133.3	127.8	140.9	127.8	131.9	142.5	125.8
A-20	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:400	279.9	330.3	311.0	272.9	250.0	274.3	260.6	269.9	283.1	244.2

[全社ﾒｼﾞｱﾝに対する各社測定値比]

検体通しN	検体名		AFP-3	AFP-5	AFP-10	AFP-11	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18
A-1	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL										
A-2	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL		131%	100%	105%	100%	97%	124%	107%	106%	84%
A-3	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL		129%	98%	105%	100%	99%	118%	102%	112%	83%
A-4	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/mL		118%	94%	98%	90%	88%	105%	103%	101%	77%
A-5	AFP:IRMM:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/mL		114%	97%	99%	80%	88%	103%	106%	102%	78%
A-6	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL										
A-7	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL		132%	94%	98%	102%	100%	119%	95%	104%	91%
A-8	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL		120%	104%	100%	99%	94%	115%	93%	102%	87%
A-9	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/mL		114%	103%	97%	96%	91%	109%	94%	100%	88%
A-10	AFP:IRMM:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/mL		118%	105%	100%	83%	90%	102%	97%	98%	
A-11	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL										
A-12	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL		131%	101%	106%	82%	105%	99%	102%	109%	86%
A-13	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL		117%	104%	102%	82%	100%	97%	100%	105%	91%
A-14	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/mL		111%	105%	97%	79%	93%	89%	101%	101%	88%
A-15	AFP:DAKO抗原:血清ﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/mL		118%	103%	100%	82%	95%	91%	105%	102%	83%
A-16	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:0ng/mL										
A-17	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:20ng/mL		133%	125%	100%	89%	108%	99%	94%	105%	93%
A-18	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:50ng/mL		116%	105%	100%	91%	100%	93%	90%	102%	87%
A-19	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:200ng/mL		113%	114%	95%	91%	100%	91%	94%	101%	89%
A-20	AFP:DAKO抗原:Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ:400ng/mL		118%	111%	97%	89%	98%	93%	96%	101%	87%
					代表採用		代表採用		代表採用	代表採用	

標品測定結果から、２－１と同様な基準を用いて４つの代表試薬を選出した。これら４試薬の臨床検体測定値より平均値を算出し、これを基準値とした。表３．にその結果を示す。

＜表３．代表試薬４試薬の臨床検体測定値とその平均値（基準値）＞

【代表試薬の平均値算出】

検体通しNo.	平均値（基準値）	AFP-10	AFP-14	AFP-16	AFP-17
A-21	775.5	742.0	711.7	794.8	853.4
A-22	525.3	501.9	495.5	538.9	564.9
A-23	386.0	364.2	355.5	404.0	420.5
A-24	327.1	312.9	294.4	348.9	352.2
A-25	274.1	261.5	254.0	293.1	287.8
A-26	228.0	211.0	213.5	241.6	245.7
A-27	182.1	172.2	168.7	190.7	196.7
A-28	145.8	139.0	137.2	151.5	155.6
A-29	143.0	135.8	134.3	145.1	156.8
A-30	118.0	110.4	111.9	123.9	125.8
A-31	118.6	109.9	111.7	123.6	129.3
A-32	90.9	83.9	86.7	95.0	97.8
A-33	66.6	63.5	63.4	67.1	72.3
A-34	42.4	40.1	41.2	42.8	45.6
A-35	41.7	39.1	38.7	42.8	46.2
A-36	32.7	31.6	31.1	33.3	34.9
A-37	29.7	27.9	28.0	30.6	32.3
A-38	25.9	24.3	24.8	26.0	28.4
A-39	28.3	27.3	27.5	27.2	31.2
A-40	17.9	16.9	17.3	18.5	19.1
A-41	17.1	15.5	16.6	17.6	18.6
A-42	4.7	4.2	4.4	5.0	5.0
A-43	3.6	3.2	3.4	4.0	3.7
A-44	3.8	3.5	3.5	4.0	4.1
A-45	4.9	4.4	4.7	5.2	5.4
A-46	4.2	3.9	4.0	4.7	4.4

２－３　臨床検体測定値の較正と効果確認

基準値に対する各社測定値の相関性を表４．に示す。また、各標品系列の相関性を用いた較正結果を、表．５に示す。

＜表４．基準値に対する各社試薬の回帰計算＞

[基準値と各社測定値]

検体通しN	基準値	AFP-1	AFP-2	AFP-3	AFP-4	AFP-5	AFP-6	AFP-7	AFP-8	AFP-9	AFP-10	AFP-11	AFP-12	AFP-13	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18	AFP-19	AFP-20	AFP-21
A-21	775.5	909.9	856.6	820.3	846.5	696.6	581.9	1,002.6	646.0	838.9	742.0	856.5	829.9	733.5	711.7	876.6	794.8	853.4	667.2	766.2	842.0	645.5
A-22	525.3	550.4	582.7	519.1	555.2	467.4	342.3	626.6	378.0	635.0	501.9	530.7	544.3	477.0	495.5	493.7	538.9	564.9	459.6	528.0	567.6	449.1
A-23	386.0	415.2	443.1	414.2	413.0	344.6	278.7	449.1	277.9	446.7	364.2	393.7	384.3	351.5	355.5	411.4	404.0	420.5	338.5	394.5	417.2	337.0
A-24	327.1	336.6	390.8	322.3	341.3	284.3	243.0	375.0	225.1	372.0	312.9	292.6	307.3	241.3	294.4	355.7	348.9	352.2	271.3	319.0	348.2	291.8
A-25	274.1	272.1	290.9	243.5	281.5	239.1	189.1	283.5	200.1	320.3	261.5	244.1	258.2	202.6	254.0	291.9	293.1	287.8	232.9	264.9	287.6	235.1
A-26	228.0	269.5	255.0	225.3	213.2	206.7	205.4	238.4	171.1	261.1	211.0	193.2	221.0	168.7	213.5	252.2	241.6	245.7	194.1	226.0	230.4	186.1
A-27	182.1	196.0	192.1	189.2	168.6	165.1	168.6	195.5	136.6	197.8	172.2	161.3	182.1	130.1	168.7	194.0	190.7	196.7	161.2	179.5	184.2	160.0
A-28	145.8	161.7	164.9	147.9	132.1	122.1	126.4	154.3	108.1	155.5	139.0	135.4	148.7	105.7	137.2	160.0	151.5	155.6	123.4	147.3	146.6	129.9
A-29	143.0	164.2	155.3	154.8	130.2	127.0	112.9	153.1	108.0	151.8	135.8	137.0	153.4	106.7	134.3	154.0	145.1	156.8	123.8	145.5	146.0	129.0
A-30	118.0	121.1	132.5	115.5	103.4	100.8	98.0	130.2	86.9	123.5	110.4	118.6	119.4	88.3	111.9	128.5	123.9	125.8	101.8	121.5	119.2	98.5
A-31	118.6	124.1	135.0	119.8	105.3	103.2	99.7	130.3	81.2	121.0	109.9	113.7	122.1	87.2	111.7	129.6	123.6	129.3	102.2	121.1	120.3	107.3
A-32	90.9	91.9	98.8	88.7	78.5	77.2	68.7	100.4	63.4	87.3	83.9	88.5	95.2	65.9	86.7	101.0	95.0	97.8	80.2	91.1	92.3	77.0
A-33	66.6	64.9	70.6	65.8	58.5	55.5	55.1	74.4	47.6	65.1	63.5	64.1	69.4	43.4	63.4	70.9	67.1	72.3	56.1	66.7	67.6	59.9
A-34	42.4	39.2	40.9	44.0	31.3	37.4	34.9	46.9	29.6	40.0	40.1	40.4	44.1	31.5	41.2	45.8	42.8	45.6	36.5	44.1	43.4	37.4
A-35	41.7	39.0	41.7	40.0	31.8	35.5	35.3	45.1	30.4	39.7	39.1	39.0	41.8	26.9	38.7	45.1	42.8	46.2	35.7	42.5	42.3	34.3
A-36	32.7	30.9	32.9	34.8	24.0	29.1	30.5	35.0	22.8	29.9	31.6	31.4	31.5	23.4	31.1	35.9	33.3	34.9	27.7	32.5	34.0	26.9
A-37	29.7	27.8	28.9	31.8	20.9	25.1	23.9	34.2	21.8	26.7	27.9	27.1	28.7	19.5	28.0	32.8	30.6	32.3	24.9	29.6	31.7	25.8
A-38	25.9	24.0	26.0	26.9	16.7	22.3	27.7	29.1	19.9	22.8	24.3	24.0	22.9	16.0	24.8	27.8	26.0	28.4	22.3	25.8	26.3	20.9
A-39	28.3	26.7	29.2	29.9	19.9	24.6	25.8	32.4	21.8	25.6	27.3	26.3	26.1	17.7	27.5	32.0	27.2	31.2	24.5	29.6	27.8	23.5
A-40	17.9	17.5	17.7	20.0	9.0	13.9	18.5	22.3	13.4	15.7	16.9	16.6	15.0	12.1	17.3	18.9	18.5	19.1	16.0	19.3	18.3	14.6
A-41	17.1	17.2	16.3	18.5	9.2	14.6	20.1	18.5	12.4	14.7	15.5	16.0	14.7	12.6	16.6	17.1	17.6	18.6	15.3	20.0	17.5	14.3
A-42	4.7	4.7	4.5	5.1	0.0		9.7	5.1	3.5	3.5	4.2	4.3	2.8	5.1	4.4	4.2	5.0	5.0	4.5	6.8	4.3	3.2
A-43	3.6	3.6	3.4	4.0	0.4		6.8	4.4	2.4	2.8	3.2	3.5	2.0	4.8	3.4	2.8	4.0	3.7	3.4	5.0	2.5	2.9
A-44	3.8	3.8	3.7	4.2	0.0		9.7	4.8	2.5	3.1	3.5	3.4	2.3	5.0	3.5	3.8	4.0	4.1	3.3	5.5	4.1	2.8
A-45	4.9	5.1	4.7	5.3	0.0		11.6	5.7	3.7	3.9	4.4	4.8	3.3	5.3	4.7	4.6	5.2	5.4	4.4	7.1	6.2	3.8
A-46	4.2	4.2	3.9	4.7	0.0		9.3	5.2	2.8	3.3	3.9	4.2	2.5	4.1	4.0	3.9	4.7	4.4	3.7	6.0	5.2	3.2

[基準値比]

検体通しNo.		AFP-1	AFP-2	AFP-3	AFP-4	AFP-5	AFP-6	AFP-7	AFP-8	AFP-9	AFP-10	AFP-11	AFP-12	AFP-13	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18	AFP-19	AFP-20	AFP-21
A-21		117%	110%	106%	109%	90%	75%	129%	83%	108%	96%	110%	107%	95%	92%	113%	102%	110%	86%	99%	109%	83%
A-22		105%	111%	99%	106%	89%	65%	119%	72%	121%	96%	101%	104%	91%	94%	94%	103%	108%	87%	101%	108%	85%
A-23		108%	115%	107%	107%	89%	72%	116%	72%	116%	94%	102%	100%	91%	92%	107%	105%	109%	88%	102%	108%	87%
A-24		103%	119%	99%	104%	87%	74%	115%	69%	114%	96%	89%	94%	74%	90%	109%	107%	108%	83%	98%	106%	89%
A-25		99%	106%	89%	103%	87%	69%	103%	73%	117%	95%	89%	94%	74%	93%	106%	107%	105%	85%	97%	105%	86%
A-26		118%	112%	99%	94%	91%	90%	105%	75%	115%	93%	85%	97%	74%	94%	111%	106%	108%	85%	99%	101%	82%
A-27		108%	105%	104%	93%	91%	93%	107%	75%	109%	95%	89%	100%	71%	93%	107%	105%	108%	89%	99%	101%	88%
A-28		111%	113%	101%	91%	84%	87%	106%	74%	107%	95%	93%	102%	72%	94%	110%	104%	107%	85%	101%	101%	89%
A-29		115%	109%	108%	91%	89%	79%	107%	76%	106%	95%	96%	107%	75%	94%	108%	101%	110%	87%	102%	102%	90%
A-30		103%	112%	98%	88%	85%	83%	110%	74%	105%	94%	101%	101%	75%	95%	109%	105%	107%	86%	103%	101%	83%
A-31		105%	114%	101%	89%	87%	84%	110%	68%	102%	93%	96%	103%	74%	94%	109%	104%	109%	86%	102%	101%	90%
A-32		101%	109%	98%	86%	85%	76%	111%	70%	96%	92%	97%	105%	73%	95%	111%	105%	108%	88%	100%	102%	85%
A-33		98%	106%	99%	88%	83%	83%	112%	71%	98%	95%	96%	104%	65%	95%	106%	101%	109%	84%	100%	102%	90%
A-34		92%	96%	104%	74%	88%	82%	110%	70%	94%	95%	95%	104%	74%	97%	108%	101%	107%	86%	104%	102%	88%
A-35		94%	100%	96%	76%	85%	85%	108%	73%	95%	94%	94%	100%	65%	93%	108%	103%	111%	86%	102%	101%	82%
A-36		94%	101%	106%	73%	89%	93%	107%	70%	91%	97%	96%	96%	71%	95%	110%	102%	107%	85%	99%	104%	82%
A-37		94%	97%	107%	70%	84%	80%	115%	74%	90%	94%	91%	97%	66%	94%	110%	103%	109%	84%	100%	107%	87%
A-38		93%	100%	104%	65%	86%	107%	113%	77%	88%	94%	93%	89%	62%	96%	107%	101%	110%	86%	100%	102%	81%
A-39		94%	103%	106%	70%	87%	91%	115%	77%	90%	97%	93%	92%	63%	97%	113%	96%	110%	87%	104%	98%	83%
A-40		97%	99%	111%	50%	77%	103%	125%	75%	87%	94%	92%	84%	67%	96%	106%	103%	106%	89%	108%	102%	81%
A-41		101%	96%	108%	54%	85%	118%	109%	72%	86%	91%	93%	86%	74%	97%	100%	103%	109%	90%	117%	102%	84%
A-42		102%	96%	109%	0%		208%	109%	75%	76%	90%	93%	60%	110%	95%	89%	107%	107%	96%	146%	92%	68%
A-43		99%	95%	112%	10%		188%	121%	66%	79%	89%	96%	56%	134%	96%	79%	112%	103%	94%	140%	70%	80%
A-44		101%	97%	112%	0%		258%	128%	67%	81%	93%	90%	61%	133%	92%	101%	106%	109%	89%	146%	109%	75%
A-45		104%	95%	108%	0%		235%	116%	76%	79%	89%	98%	67%	108%	95%	94%	106%	110%	89%	144%	126%	77%
A-46		100%	93%	111%	0%		220%	123%	67%	78%	92%	100%	59%	96%	94%	92%	111%	104%	86%	141%	122%	75%

[解析①：基準値に対する回帰計算]

	AFP-1	AFP-2	AFP-3	AFP-4	AFP-5	AFP-6	AFP-7	AFP-8	AFP-9	AFP-10	AFP-11	AFP-12	AFP-13	AFP-14	AFP-15	AFP-16	AFP-17	AFP-18	AFP-19	AFP-20	AFP-21
傾き=	1.13	1.12	1.03	1.09	0.90	0.72	1.23	0.78	1.14	0.95	1.05	1.04	0.91	0.92	1.08	1.03	1.09	0.86	0.99	1.08	0.85
切片=	-6.60	-1.85	-2.08	-14.23	-2.45	8.87	-11.17	-5.01	-4.79	-0.92	-9.50	-4.56	-13.05	1.14	-0.66	0.80	-1.03	-0.14	1.57	-3.92	1.50
R=	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00

＜表５．各標品での較正効果の確認＞

【相関傾き】

	較正前	較正後			
		IRMM 血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	IRMM Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ	DAKO抗原 血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	DAKO抗原 Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ
AFP-1	1.13	1.10	1.07	1.10	1.05
AFP-2	1.12	1.06	0.95	0.91	0.90
AFP-3	1.03	0.90	0.84	0.88	0.86
AFP-4	1.09	0.81	0.83	0.92	0.86
AFP-5	0.90	0.91	0.82	0.87	0.79
AFP-6	0.72	0.77	0.70	0.84	1.05
AFP-7	1.23	1.41	1.38	1.55	1.46
AFP-8	0.78	0.71	0.72	0.86	0.96
AFP-9	1.14	0.91	0.98	0.90	0.89
AFP-10	0.95	0.96	0.92	0.96	0.97
AFP-11	1.05	1.31	1.22	1.28	1.15
AFP-12	1.04	1.27	1.35	1.32	1.37
AFP-13	0.91	1.02	0.88	0.97	0.88
AFP-14	0.92	1.04	0.99	0.98	0.93
AFP-15	1.08	1.03	1.01	1.19	1.14
AFP-16	1.03	0.96	1.02	0.99	1.05
AFP-17	1.09	1.06	1.08	1.07	1.06
AFP-18	0.86	1.10	0.93	1.04	0.97
AFP-19	0.99	0.88	0.82	0.92	0.86
AFP-20	1.08	0.97	0.94	0.95	0.92
AFP-21	0.85	0.84	0.86	0.90	0.83
平均	1.00	1.00	0.97	1.02	1.00
SD	0.13	0.17	0.18	0.18	0.17
CV	12.9%	17.4%	18.5%	17.7%	17.1%
MAX	1.23	1.41	1.38	1.55	1.46
MIN	0.72	0.71	0.70	0.84	0.79
MAX-MIN	0.52	0.70	0.68	0.71	0.67

【まとめ】

±10%以内	13試薬	13試薬	10試薬	13試薬	10試薬
±10～20%以内	5試薬	3試薬	6試薬	5試薬	8試薬
±20%以上	3試薬	5試薬	5試薬	3試薬	3試薬

以上の結果より、代表試薬を選出して実施した今回の宿題解析においても、各標品での校正効果は見られず、校正前（即ち現状そのまま）が最も収束していることが明らかとなった。また、表．４の結果より、濃度域を限定した解析（例えば 100-300ng/mL の範囲）も模索したが、先の結論と同じであった。

３．AFP の現状と今後の課題

今回の「校正前が最も収束していると」いう結果は、実検体が最も較正に適している事を示しており、現在の医薬品承認申請の際に実施する「実検体での他社キットとの相関性評価」が妥当であることも示している。本 WG の目的である標準化実現する為の手段としては、各社で共通に使用できる「実検体標品」を大量に確保することが最適な方法と考えられるが、現実的な話では無い。限りなく実検体に近い標品を設定する為に、標品となりうる血清マトリックス等の詳細な検証が必要である。

「添付資料１－1」

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC９

AFP共同実験 ： 検討サンプル一覧

＜実検体＞

設定濃度域	検体数	検体量
0～10ng/ml	5	1検体13.2mL (0.6mL x 22本)
10～100ng/ml	10	
100～200ng/ml	10	
200～1000ng/ml	5	
(合　計)	30	

＊) がんセンターからの検体収集結果によって、内容変更となる場合がある。

＜IRMM希釈系列＞

標品種	ﾏﾄﾘｯｸｽ	設定濃度 (ng/mL)
IRMM AFP	血清系	0、20、50、200、400
IRMM AFP	Buffer系	0、20、50、200、400

＜DAKO希釈系列＞

抗原種	ﾏﾄﾘｯｸｽ	設定濃度 (ng/mL)
DAKO抗原	血清系	0、20、50、200、400
DAKO抗原	Buffer系	0、20、50、200、400

「添付資料１－２」

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験　：　購入品目一覧

使用目的	相関検討用	公的標準品での検討用	推奨できる標品検討用
品名	AFP検体 (30例)	Purified alphafoetprotein (AFP)	Alpha-1-Fetoprotein(AFP) [Human Serum Standard]
ﾒｰｶｰ		IRMM	DAKO
code		BCR-486	X0900
容量		100ug	1mL (約90000IU/mL)
@			18,000円／本
数量		4本	2本
購入	WG予算で購入	WG予算で購入	WG予算で購入
注意事項	06/9入荷予定	WHO (72/225) より変更	日本ﾊﾞｲｵﾃｽﾄ社製より変更

	Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ用	Bufferﾏﾄﾘｯｸｽ用	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ用
品名	Tris、塩酸、塩化ﾅﾄﾘｳﾑ	BSA	AFP free serum (ﾋﾄ由来)
ﾒｰｶｰ	調製ﾒｰｶｰへ一任	Sigma	biospacific
code		A7030	P61000
容量		10g	1L
@		10,400	270,000円／L
数量		4	1L
購入	調製ﾒｰｶｰ負担	調製ﾒｰｶｰ負担	WG予算で購入
注意事項	特級使用		

「添付資料１－３」

JCCLS標準化基本検討委員会 柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験 ： 標準サンプル作製プロトコール （第7版）

【1．ベースとなる血清マトリックスの調整】

BioSpacific社製AFPfreeSerumをそのまま用いる。

【2．ベースとなるBufferマトリックスの調整】

試　　薬　：
- Sigma社製BSA（A7030）
- ﾄﾘｽ（ﾋﾄﾞﾛｷｼﾒﾁﾙ）ｱﾐﾉﾒﾀﾝ（特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。）
- 塩化ﾅﾄﾘｳﾑ（特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。）
- 塩酸（特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。）

組　　成　：50mMﾄﾘｽ塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4

作 製 量　：1L

調 製 方 法　：
1） 2-ｱﾐﾉ-2-ﾋﾄﾞﾛｷｼﾒﾁﾙ-1,3-ﾌﾟﾛﾊﾟﾝｼﾞｵｰﾙ（Tris） 6.057gを精製水0.8Lに溶解する。
2） 塩化ﾅﾄﾘｳﾑ 8.766gを溶解する。
3） 塩酸を適量添加して、pHを7.3に調整する。
4） 液の回転を停止し、BSA 10gを液面に乗せて溶解する。
5） 溶液を0.95Lにﾒｽｱｯﾌﾟする。
6） 塩酸を適量添加して、pHを7.4に調整する。
7） 溶液を1Lにﾒｽｱｯﾌﾟする。
8） pHを確認する（7.4±0.1）。

【3．IRMM標品の溶解】

本品は凍結乾燥品である。添付の説明書に従い、1.0mLのリン酸Bufferで溶解させる。溶解後の濃度は、１００μg/mLとなる。
血清マトリックス検討用及びBufferマトリックス検討用に、それぞれ1本づつ溶解する。

【4．IRMM血清マトリックス希釈系列の調整】

調 整 濃 度 域　：0ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、200ng/mL、400ng/mL

作 製 量　：
- ・各社配布分 ： 各ポイント1mL×22ヶ
- ・予備（保管）分 ： 各ポイント1mL×8ヶ
  →輸送時のトラブル対応用とする。

使用する希釈液　：BioSpacific社製AFPfreeSerum

調 製 方 法　：下表の通り。なお、希釈には重量希釈法を用いる。

ｻﾝﾌﾟﾙ名	IRMM溶解液	高濃度品	A-5	A-4	A-3	A-2	A-1
濃度	100 ug/mL	10 ug/mL	400 ng/mL	200 ng/mL	50 ng/mL	20 ng/mL	0 ng/mL
原液（g）	1.00	1.00	4.02	40.50	21.00	24.00	-
希釈液（g）	-	9.00	96.48	40.50	63.00	36.00	30.00
仕上がり量（g）	-	10.00	100.50	81.00	84.00	60.00	-
次濃度作製分（g）	1.00	4.02	40.50	21.00	24.00	-	-
分注使用量（g）	-	-	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
ﾊﾞﾙｸ保管量（g）	-	5.98	30.00	30.00	30.00	30.00	-

＊）小分け保存した各ポイントの余り溶液は、共同実験終了時までにバルク状態で凍結保管しておく。

注 意 事 項 ①　：表示濃度は実際の希釈倍数に基づいて算出する。従って、予定濃度と差が生まれる場合がある。

注 意 事 項 ②　：今回の検討では血清系とBuffer系のマトリックス間差を等しく評価する必要がある。各ﾎﾟｲﾝﾄを作製する際には、血清系とBuffer系で希釈倍数がなるべく近くなるようにする。

保 存 ・ 配 布　：凍結保存容器に1mLづつ分注してー30℃以下で凍結後、各社へ配布する。保存容器の選定は担当業者へ一任する。

【5．IRMMBufferマトリックス希釈系列の調整】
希釈液を「50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4」へ変更し、【4．】と同様に作製する。
ｻﾝﾌﾟﾙ名には、A-6～A-10を割り当てる。

【6．DAKO血清マトリックス希釈系列の調整】
調 整 濃 度 域 ：0ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、200ng/mL、400ng/mL
作 製 量 ：・各社配布分 ： 各ポイント1mL×22ヶ
・予備(保管)分 ： 各ポイント1mL×8ヶ
→輸送時のトラブル対応用とする。
使用する希釈液 ：BioSpacific社製AFPfreeSerum
使 用 す る 抗 原 ：DAKO社製Alpha-1-Fetoprotein(AFP)
→ロケット免疫電気泳動法での表示濃度は、90890 IU/mL(＝110 ug/mL)である。
調 製 方 法 ：下表の通り。なお、希釈には重量希釈法を用いる。

ｻﾝﾌﾟﾙ名	DAKO原液	高濃度品	A-15	A-14	A-13	A-12	A-11
濃度	110 ug/mL	10 ug/mL	400 ng/mL	200 ng/mL	50 ng/mL	20 ng/mL	0 ng/mL
原液(g)	約1.00	0.9090	4.02	40.50	21.00	24.00	-
希釈液(g)	-	9.09	96.48	40.50	63.00	36.00	30.00
仕上がり量(g)	-	10.00	100.50	81.00	84.00	60.00	-
次濃度作製分(g)	0.9090	4.02	40.50	21.00	24.00	-	-
分注使用量(g)	-	-	30.00	30.00	30.00	30.00	30.00
ﾊﾞﾙｸ保管量(g)	0.0910	5.98	30.00	30.00	30.00	30.00	-

＊)小分け保存した各ポイントの余り溶液は、共同実験終了時までにバルク状態で凍結保管しておく。

注 意 事 項 ① ：表示濃度は実際の希釈倍数に基づいて算出する。従って、予定濃度と差が生まれる場合がある。

注 意 事 項 ② ：今回の検討では血清系とBuffer系のﾏﾄﾘｯｸｽ間差を等しく評価する必要がある。各ﾎﾟｲﾝﾄを作製する際には、血清系とBuffer系で希釈倍数がなるべく近くなるようにする。

注 意 事 項 ③ ：表示濃度は暫定値とし、各社測定結果を基に値付けする。

保 存 ・ 配 布 ：凍結保存容器に1mLづつ分注してー30℃以下で凍結後、各社へ配布する。保存容器の選定は担当業者へ一任する。

【7．DAKOBufferマトリックス希釈系列の調整】
希釈液を「50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4」へ変更し、【6．】と同様に作製する。
ｻﾝﾌﾟﾙ名には、A-16～A-20を割り当てる。

【8．備考】
・必要な凍結保存容器数 ： 600本 (30本/1希釈系列 × 5系列 × 4種類)

「添付資料１－４」

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC９

AFP共同実験　：　実検体サンプル作製プロトコール

【1．国立がんセンターより入手したサンプル】

表示ｸﾞﾙｰﾌﾟ	表示濃度範囲	検体数
ｸﾞﾙｰﾌﾟ①	0～10 ng/mL	24本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ②	10～100 ng/mL	47本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ③	100～200 ng/mL	47本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ④	200～1000 ng/mL	24本

液量：約3mL

2007/1/17に、国立がんセンターより入手。ただし、各検体の濃度範囲情報しかなく、個々の測定値は不明。
また液量も3mL程度であった為、複数検体を混合してプール検体とする事にした。

【2．作製方針】

・各検体の測定を行い、結果に基づいて検体及び健常人プール血清を混合し、実検体サンプルとする。
・作製する実検体サンプル数は、２６サンプルとなる。
　（本内容で必要濃度域を網羅できることから、DAKO抗原を用いたサンプルは作製しないこととした）
・各検体の容量は、約3mLである。各社配布分としての必要量は約１４mLであるので、6検体ずつを混合する。
・余り分は、予備分（輸送時のトラブル対応用）として小分け保管する。
　1サンプルあたりの分注本数内訳
　・１４mL　：　各社発送分　（０．６mL×２２試薬）
　・4mL　：　予備保管分　（０．６mL×約８本）

【3．調整方法】

（1）検体及び健常人プール血清を混合し、実検体サンプルのバルク溶液とする。
（2）遠心（3000rpm×15min）により、浮遊物を除去する。
（3）バルク溶液を０．６mLずつ小分し、サンプル名ラベルを貼り付ける。
　→分注本数　：　３０本×２６検体＝７８０本
（4）－６０℃以下で凍結保存する。

【4．作製した検体一覧】

通しNo.	ﾗﾍﾞﾙ名	ｻﾝﾌﾟﾙ名	予定濃度範囲
1	A-21	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-1 (200～1000ng/ml)	200～1000ng/ml
2	A-22	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-2 (200～1000ng/ml)	200～1000ng/ml
3	A-23	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-3 (200～1000ng/ml)	200～1000ng/ml
4	A-24	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-4 (200～1000ng/ml)	200～1000ng/ml
5	A-25	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-5 (200～1000ng/ml)	200～1000ng/ml
6	A-26	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-6 (100～200ng/ml)	100～200ng/ml
7	A-27	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-7 (100～200ng/ml)	100～200ng/ml
8	A-28	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-8 (100～200ng/ml)	100～200ng/ml
9	A-29	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-9 (100～200ng/ml)	100～200ng/ml
10	A-30	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-10 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
11	A-31	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-11 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
12	A-32	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-12 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
13	A-33	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-13 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
14	A-34	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-14 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
15	A-35	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-15 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
16	A-36	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-16 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
17	A-37	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-17 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
18	A-38	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-18 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
19	A-39	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-19 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
20	A-40	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-20 (10～100ng/ml)	10～100ng/ml
21	A-41	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-21 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml
22	A-42	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-22 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml
23	A-43	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-23 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml
24	A-44	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-24 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml
25	A-45	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-25 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml
26	A-46	AFP：ﾌﾟｰﾙ検体-26 (0～10ng/ml)	0～10ng/ml

「添付資料１－５」

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC９

AFP共同実験　：　検体測定に関する諸連絡

① 各ｻﾝﾌﾟﾙの内容量は、600uLです。

② 測定はn=2以上で実施頂き、平均値もしくは中央値をご報告ください。
平均値もしくは中央値の判断は、各社で行ってください。

③ 検体によっては、希釈測定が必要な試薬があるかと思います。
「結果報告用紙」中に各検体の予想濃度範囲を記載してますので、参考にしてください。

「添付資料2」

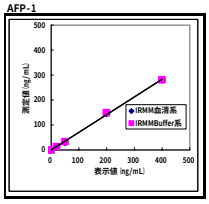
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： IRMM標品系列の表示値に対する相関

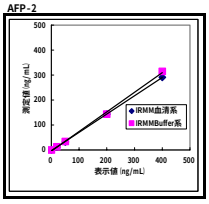
・X軸 ： IRMMの表示値

・Y軸 ： 各社測定値

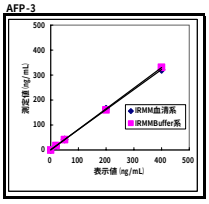
AFP-1



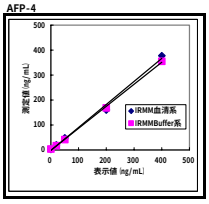
AFP-2



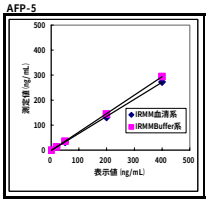
AFP-3



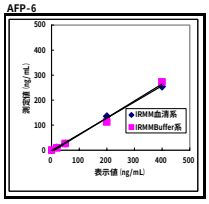
AFP-4



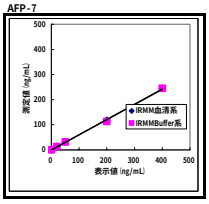
AFP-5



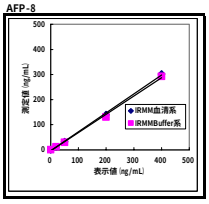
AFP-6



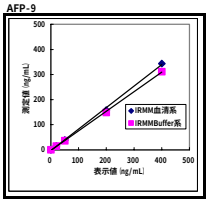
AFP-7



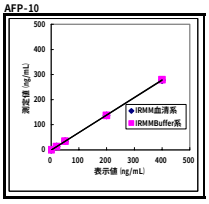
AFP-8



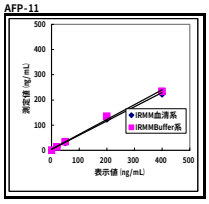
AFP-9



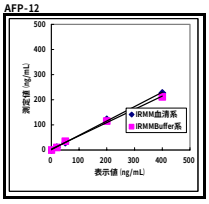
AFP-10



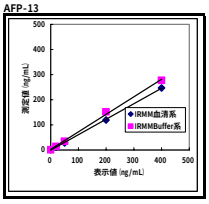
AFP-11



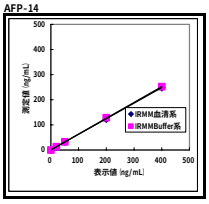
AFP-12



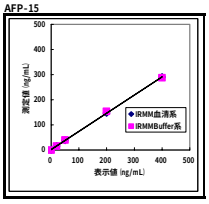
AFP-13



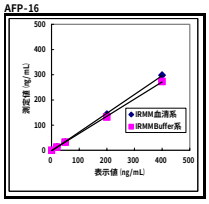
AFP-14



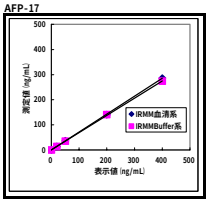
AFP-15



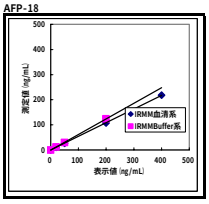
AFP-16



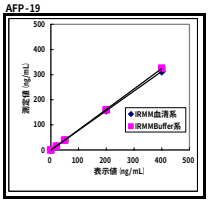
AFP-17



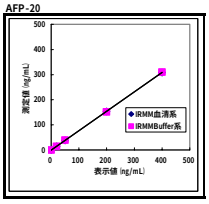
AFP-18



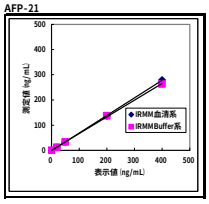
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料3」

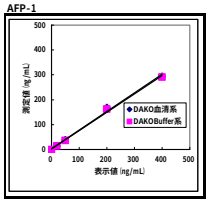
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： DAKO抗原系列の表示値に対する相関

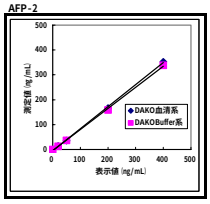
・X軸 ： DAKO抗原の表示値

・Y軸 ： 各社測定値

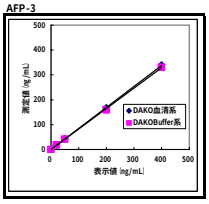
AFP-1



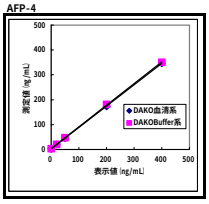
AFP-2



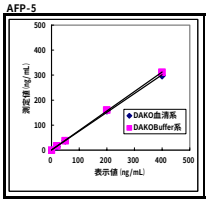
AFP-3



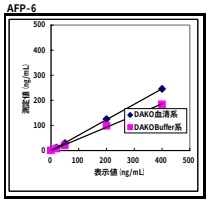
AFP-4



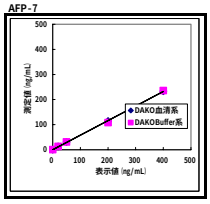
AFP-5



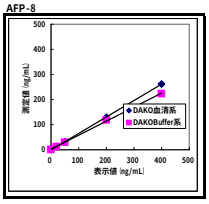
AFP-6



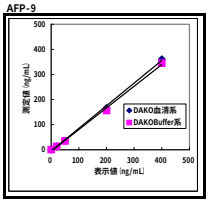
AFP-7



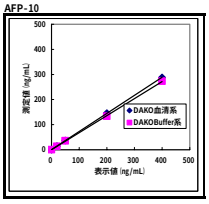
AFP-8



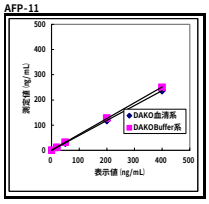
AFP-9



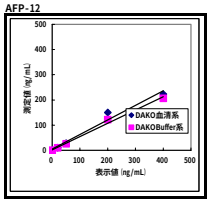
AFP-10



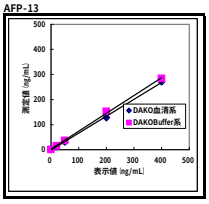
AFP-11



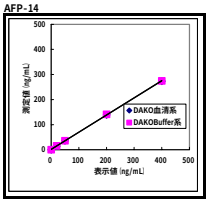
AFP-12



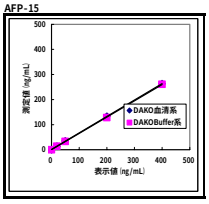
AFP-13



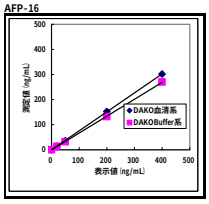
AFP-14



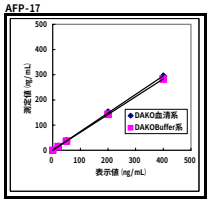
AFP-15



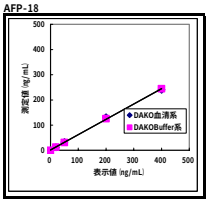
AFP-16



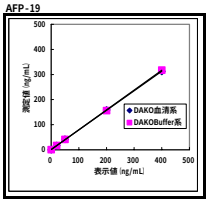
AFP-17



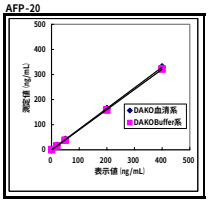
AFP-18



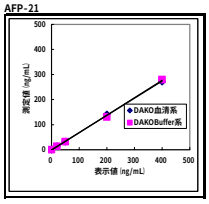
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料4」

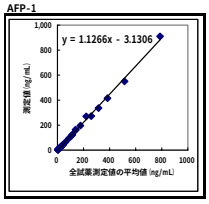
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC 9

AFP共同実験解析結果 ： プール検体の血清相関

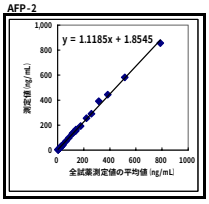
・X軸 ： 全試薬測定値の平均値

・Y軸 ： 各社測定値

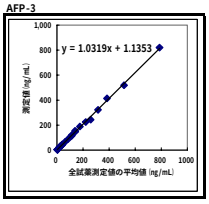
AFP-1



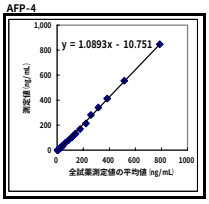
AFP-2



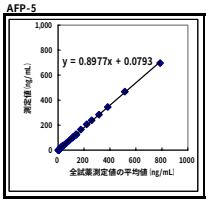
AFP-3



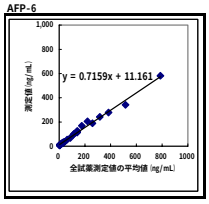
AFP-4



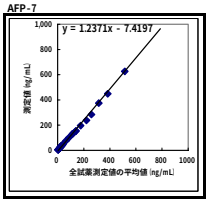
AFP-5



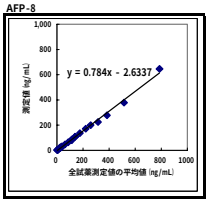
AFP-6



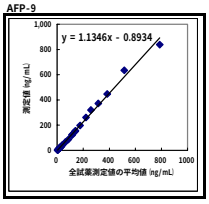
AFP-7



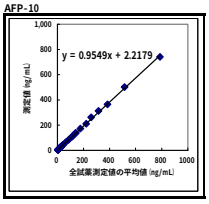
AFP-8



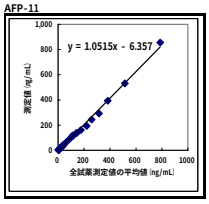
AFP-9



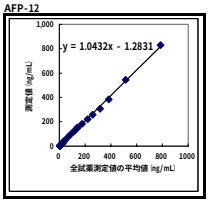
AFP-10



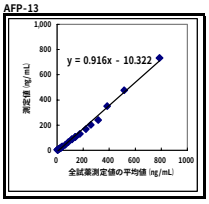
AFP-11



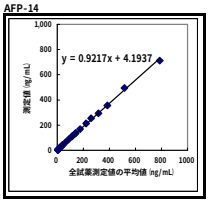
AFP-12



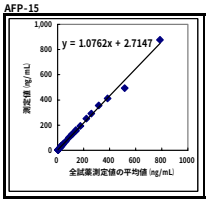
AFP-13



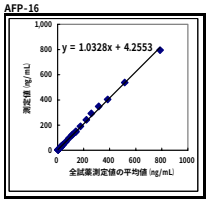
AFP-14



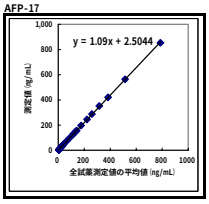
AFP-15



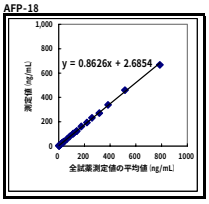
AFP-16



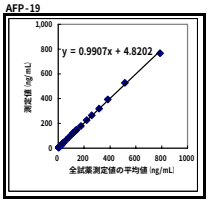
AFP-17



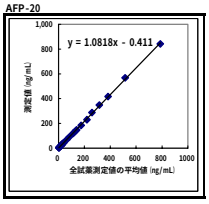
AFP-18



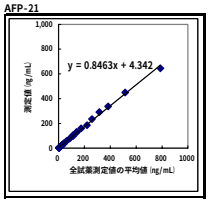
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料5」

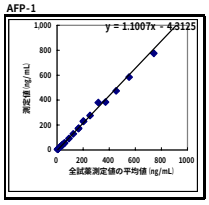
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： IRMM血清系で較正後のプール検体の血清相関

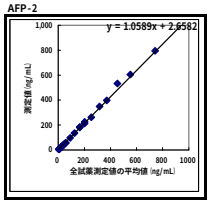
・X軸 ： 較正後の全試薬測定値の平均値
・Y軸 ： 較正後の各社測定値

[較正方法]
（各社のﾌﾟｰﾙ血清測定値）÷（IRMM血清マトリックスの表示値に対する傾き） にて各社測定値を較正。

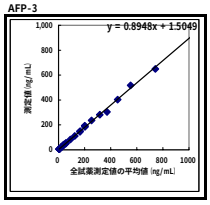
AFP-1



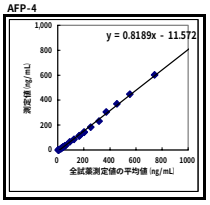
AFP-2



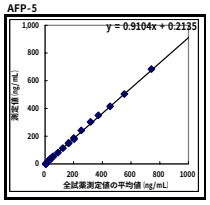
AFP-3



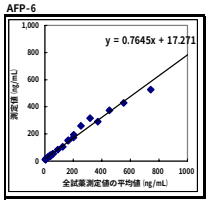
AFP-4



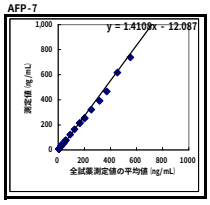
AFP-5



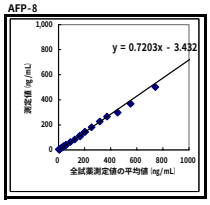
AFP-6



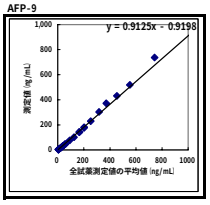
AFP-7



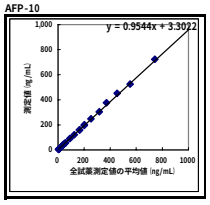
AFP-8



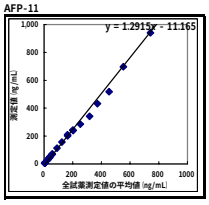
AFP-9



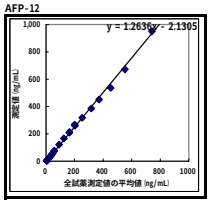
AFP-10



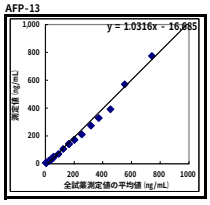
AFP-11



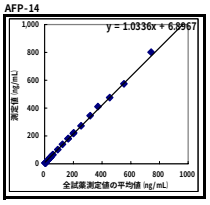
AFP-12



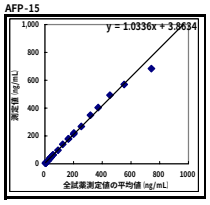
AFP-13



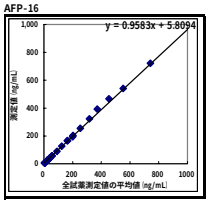
AFP-14



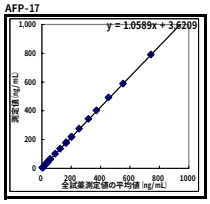
AFP-15



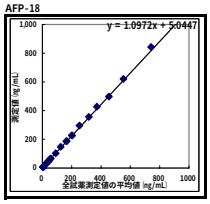
AFP-16



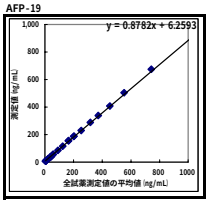
AFP-17



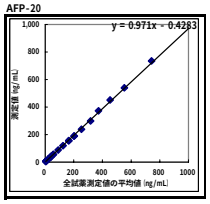
AFP-18



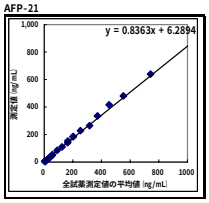
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料6」

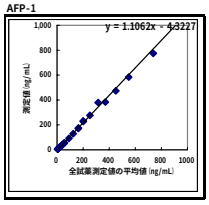
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： IRMMBuffer系で較正後のプール検体の血清相関

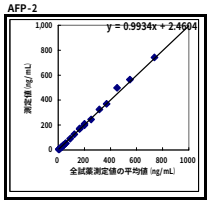
・X軸 ： 較正後の全試薬測定値の平均値
・Y軸 ： 較正後の各社測定値

［較正方法］
（各社のﾌﾟｰﾙ血清測定値）÷（IRMMBufferマトリックスの表示値に対する傾き） にて各社測定値を較正。

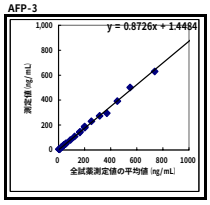
AFP-1



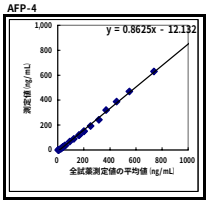
AFP-2



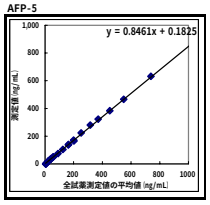
AFP-3



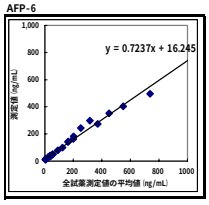
AFP-4



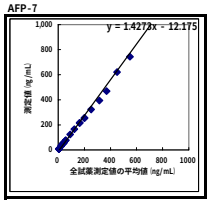
AFP-5



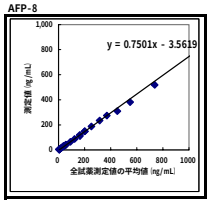
AFP-6



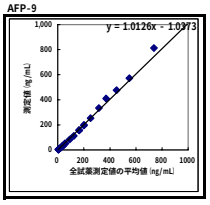
AFP-7



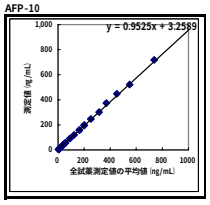
AFP-8



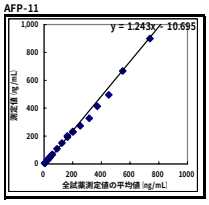
AFP-9



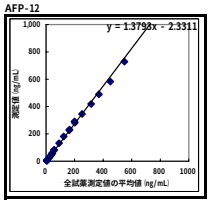
AFP-10



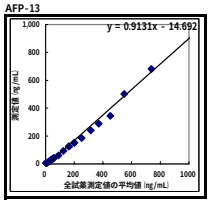
AFP-11



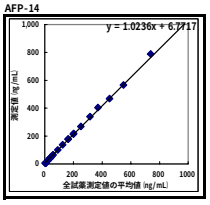
AFP-12



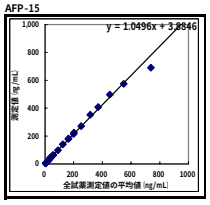
AFP-13



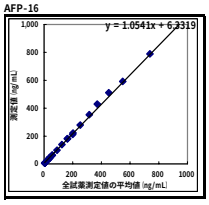
AFP-14



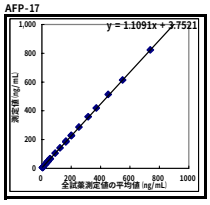
AFP-15



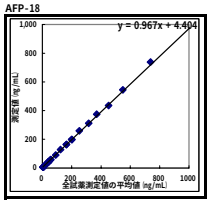
AFP-16



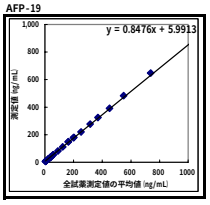
AFP-17



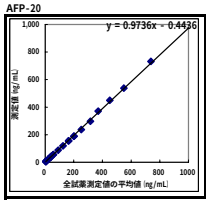
AFP-18



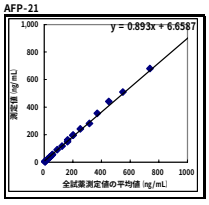
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料7」

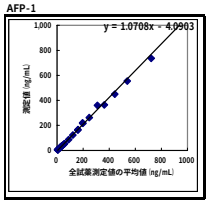
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： DAKO抗原血清系で較正後のプール検体の血清相関

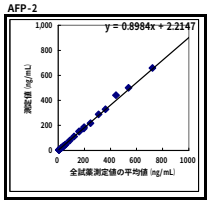
・X軸 ： 較正後の全試薬測定値の平均値
・Y軸 ： 較正後の各社測定値

［較正方法］
（各社のﾌﾟｰﾙ血清測定値）÷（DAKO抗原血清マトリックスの表示値に対する傾き） にて各社測定値を較正。

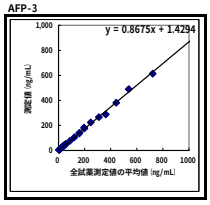
AFP-1



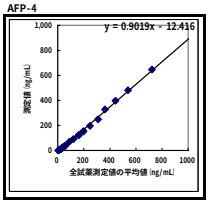
AFP-2



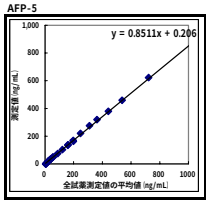
AFP-3



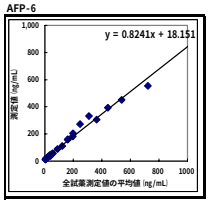
AFP-4



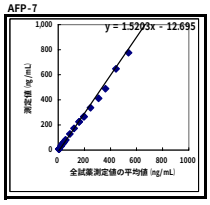
AFP-5



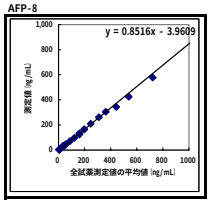
AFP-6



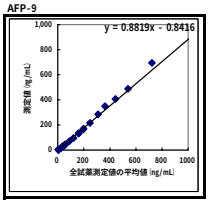
AFP-7



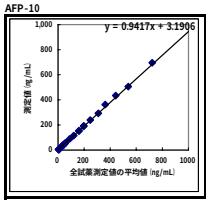
AFP-8



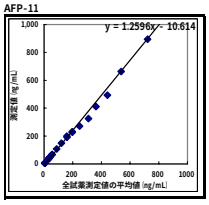
AFP-9



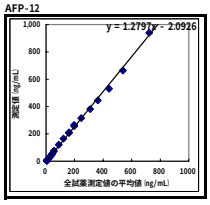
AFP-10



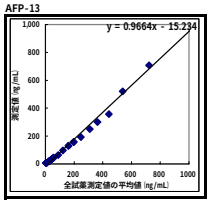
AFP-11



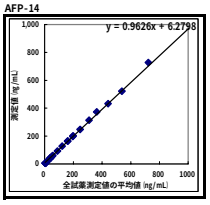
AFP-12



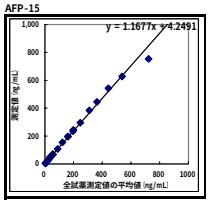
AFP-13



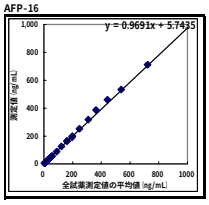
AFP-14



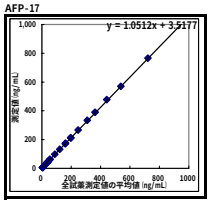
AFP-15



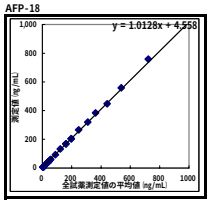
AFP-16



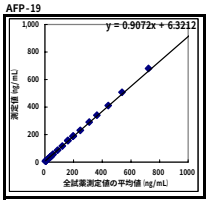
AFP-17



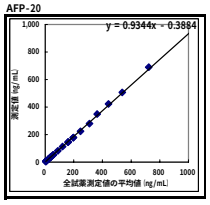
AFP-18



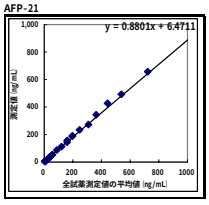
AFP-19



AFP-20



AFP-21



「添付資料8」

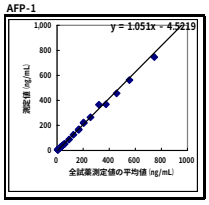
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

AFP共同実験解析結果 ： DAKO抗原Buffer系で較正後のプール検体の血清相関

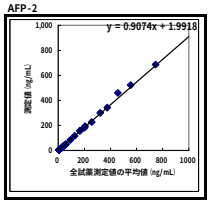
・X軸 ： 較正後の全試薬測定値の平均値
・Y軸 ： 較正後の各社測定値

[較正方法]
（各社のﾌﾟｰﾙ血清測定値）÷（DAKO抗原Ｂｕｆｆｅｒマトリックスの表示値に対する傾き） にて各社測定値を較正。

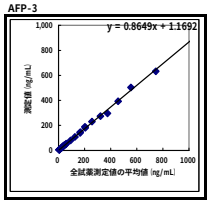
AFP-1



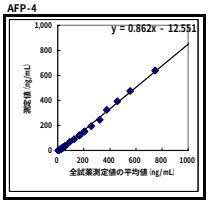
AFP-2



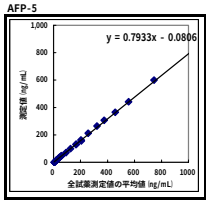
AFP-3



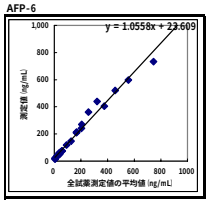
AFP-4



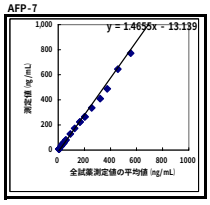
AFP-5



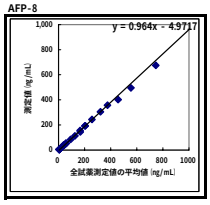
AFP-6



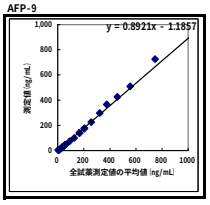
AFP-7



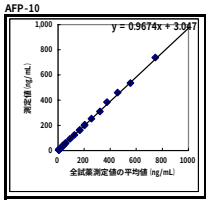
AFP-8



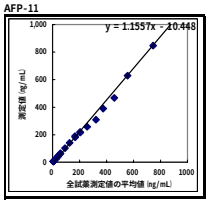
AFP-9



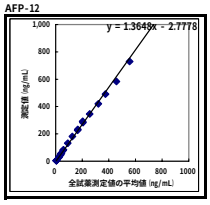
AFP-10



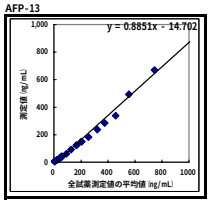
AFP-11



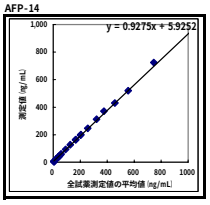
AFP-12



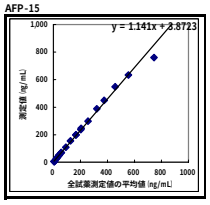
AFP-13



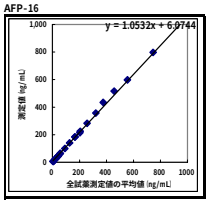
AFP-14



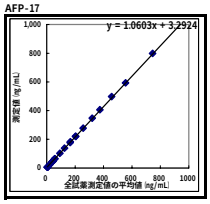
AFP-15



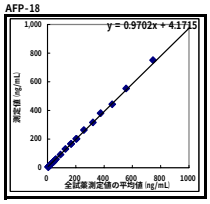
AFP-16



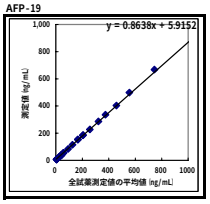
AFP-17



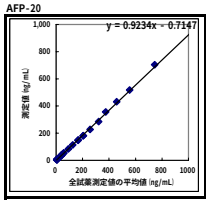
AFP-18



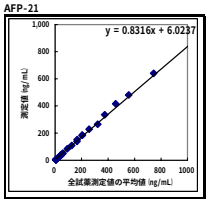
AFP-19



AFP-20



AFP-21



２－４－２－１７　癌胎児性抗原（CEA）

要旨

１）標準物質候補品を使用して各社試薬のデータ収束性について検証すると共に、実際の臨床検体を測定し、試薬の測定値間差の現状把握を行った。

２）各社試薬の値付けの根拠について調査したところ、CEA の公的標品として認知されている物質は、WHO 73/601 の一種類であった。また、公的標品をスタンダードの値付け物質として使用しているのは、全回答 14 件のうち 3 件であった。

３）標準物質候補品 WHO 73/601 での共同実験の結果より、殆どの試薬で血清系と Buffer 系での反応性差は見られなかった。しかし、WHO 73/601 標品系列の表示値に対する相関の傾きの試薬間差は、最大で 350%以上であることが示された。

４）臨床検体を用いた共同実験の結果より、中央値に対する相関の傾きの試薬間差は最大で 230%以上であることが示された。

５）WHO 73/601 の相関の傾きと臨床検体の相関の傾きは、全 17 試薬のうち、全濃度域で 9 試薬、濃度域 0-120ng/mL で 6 試薬が±0.15 を超えて異なっており、WHO 73/601 標品系列と臨床検体中の CEA 抗原の反応性が異なっている可能性が高いことが示された。

６）５）の理由により、WHO 73/601 標品系列の測定結果を基に各試薬の臨床検体測定値を較正して測定値是正の検証を行ったが、収束度はほとんど変わらなかった。

７）標準化のためには、今後、新たな標準物質候補品の確認が必要であり、多くの市販試薬で臨床検体と同様の反応性を示すことを確認基準とすることが必要であると考えられた。

１．目的

癌胎児性抗原（CEA）は C9WG 調査研究対象項目中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 2（基準①-B）」に属する。

本 WG（CEA）では、基準となる標準品及びﾍﾞｰｽを共通化して推奨できる標準品の選定を行っていくと共に、実際の臨床検体と各社測定試薬を用いて測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。

２．委員会の構成

メンバーの構成を下記に記す。ただし、WG発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社

CEA 実行計画作成者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術ｱﾄﾞﾊﾞｲｻﾞｰ	桑　克彦	筑波大学大学院
技術ｱﾄﾞﾊﾞｲｻﾞｰ	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術ｱﾄﾞﾊﾞｲｻﾞｰ	森下　芳孝	三重大学医学部附属病院
技術ｱﾄﾞﾊﾞｲｻﾞｰ	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	大西　純	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	藤井　淳一	日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ株式会社
技術担当者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社

３．委員会の開催

第１回会合：2005/11/14（月）　13：00～16：30　（臨薬協会議室）
第２回会合：2006/ 3/ 9（木）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第３回会合：2006/ 6/12（月）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第４回会合：2006/ 7/ 7（金）　13：00～15：00　（臨薬協会議室）
第５回会合：2006/10/30（月）　13：00～14：00　（臨薬協会議室）
第６回会合：2007/2/23（金）　14：00～17：00　（臨薬協会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

CEA には WHO 推奨国際標品が存在し、NIBSC より「Carcinoembryonic Antigen 1st International Reference Preparation (NIBSC CODE: 73/601) 」として発売されている。この国際標品と各社試薬の「スタンダード値付け」との関係について調査を行い、表１の回答が得られた。

表 1：スタンダードの値付けに使用している標準物質

WHO 73/601	購入抗原	なし
3 社	1 社	10 社

４－２　標準化および標準物質の設定経過

CEA の公的標品として認知されている物質は、WHO 73/601 の一種類であった。よって、今回の WG においては、本品を使用し、その適用性を評価した。

４－３　値付けの測定方法の選択

本年度の活動においては、４－２に示した測定対象物質を表示値通りに希釈して使用しており、詳細な値付けは未実施である。

５．標準物質の設定概要

５－１　実験計画書

添付資料１「CEA 共同実験プロトコル」参照

５－２　共同実験

５－２－１　測定試料

添付資料１「CEA 共同実験プロトコル」参照

なお、検討に用いた臨床検体は、「JCCLS 標準化基本検討委員会 柱 1:臨床検査用標準物質の研究開発で測定するヒト検体についての見解(2006 年 1 月 10 日)」に従って参加企業へ配布した。

５－２－２　測定方法

添付資料１「CEA 共同実験プロトコル」参照

５－２－３　測定結果

①WHO 73/601 標品系列の表示値に対する相関

WHO 73/601 の希釈血清マトリックスサンプル及び Buffer マトリックスサンプルの各社測定結果より、表示値に対する相関性を算出した。結果は表２の通りである。併せて、相関図を「添付資料 2」に示す。なお、単位は、WHO 73/601 表示値は IU/mL、各試薬の測定値は ng/mL である。

表２：WHO 73/601 標品系列の表示値に対する相関

試薬 No.	表示値との相関の傾き		ﾏﾄﾘｯｸｽ間差
	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ	(血清/Buffer)
1	66.47	70.92	93.7%
2	71.90	73.04	98.4%
3	67.48	67.78	99.6%
4	39.63	42.18	93.9%
5	29.46	29.46	100.0%
6	75.79	79.52	95.3%
7	37.60	43.47	86.5%
8	104.01	86.34	120.5%
9	83.19	84.64	98.3%
10	106.45	103.12	103.2%
11	70.05	76.73	91.3%
12	81.66	79.43	102.8%
13	83.56	83.19	100.4%
14	55.85	58.27	95.9%
15	50.15	52.90	94.8%
16	32.49	33.02	98.4%
17	40.05	47.49	84.3%
平均値	64.46	65.38	
CV%	36.8%	32.1%	
中央値	67.48	70.92	
Min	29.46	29.46	
Max	106.45	103.12	
Max / Min	361.3%	350.0%	
Max - Min	76.99	73.66	

何れのマトリックスでも全体のばらつきｷは CV 30%以上であり、相関の傾きの差は最大で 350%以上であった。また、これらの傾きの差をマトリックス間差とすると 17 試薬中 14 試薬で 10%以下であり、両者の平均値の差は殆ど見られなかった。これらの結果より、マトリックス間差は大きくないが、試薬間差が極めて大きいことが示された。

②臨床検体での血清相関の解析

臨床検体より作製したプール検体の測定結果より、全試薬の測定値の中央値に対する相関性を算出した。各検体の中央値を確認すると 25 例が 120ng/mL 以下、残り 5 例が 250ng/mL 以上であり、検体群に偏りが認められたため、全濃度域及び濃度域 0-120ng/mL について、それぞれ解析を行った。結果は、表３の通りである。併せて、相関図を「添付資料 3」に示す。

表３：臨床検体の中央値に対する相関

試薬 No.	全濃度域		濃度域 0-120ng/mL	
	中央値との相関の傾き	中央値との相関係数	中央値との相関の傾き	中央値との相関係数
1	0.97	0.999	0.97	0.999
2	1.06	0.998	1.00	0.999
3	1.00	1.000	0.95	0.999
4	0.54	0.999	0.51	0.999
5	0.67	0.998	0.66	0.997
6	1.27	0.995	1.13	0.944
7	0.91	0.992	0.80	0.996
8	1.42	0.998	1.22	0.999
9	1.29	0.999	1.20	0.998
10	1.15	0.999	1.16	0.993
11	1.20	0.990	1.14	0.994
12	0.90	0.993	1.06	0.998
13	0.90	0.985	1.20	0.999
14	1.08	0.998	1.04	0.997
15	0.75	0.999	0.64	0.999
16	0.67	0.999	0.63	0.997
17	1.04	1.000	1.01	0.999
平均値	0.99	-	0.96	-
CV%	24.3%	-	23.8%	-
中央値	1.00	-	1.01	-
Min	0.54	0.985	0.51	0.944
Max	1.42	1.000	1.22	0.999
Max / Min	264.1%	-	238.9%	-
Max - Min	0.89	-	0.71	-

全体のばらつきは、全濃度域で CV 24.3%、濃度域 0-120ng/mL で CV 23.8%であり、相関の傾きの差は、それぞれ最大で 264.1%、238.9%であった。WHO 73/601 標品系列と同様に、試薬間差が極めて大きいことが示された。また、相関係数は、17 試薬中 16 試薬で 0.99 以上であった。

③測定値間差の是正の検証

WHO 73/601 標品系列の測定結果を基に、臨床検体測定結果の校正を全濃度域（表４）及び濃度域 0-120ng/mL（表５）について、それぞれ試みた。校正方法は、以下の通りである。併せて、相関図を「添付資料 4」に示す。

(1) WHO73/601 標品系列の各マトリックスの相関の傾き(IU/mL)を、下記の式により、ng/mL に換算し、各社試薬の校正係数とした。

1 IU/mL = 111 ng/mL

(Br.J.Cancer (175) 32, 295 中の CBRI の結果の平均値を使用した。)

(2)各社試薬の臨床検体測定値をそれぞれの校正係数で除した値を、校正後測定値とした。

(3)得られた校正後測定値を集計し、回帰計算を行った。

表４：臨床検体の中央値に対する相関の傾きの是正（全濃度域）

試薬 No.	全濃度域		
	較正前	較正後	
		血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ
1	0.97	0.97	0.91
2	1.06	0.98	0.96
3	1.00	0.98	0.98
4	0.54	0.90	0.85
5	0.67	1.50	1.50
6	1.27	1.11	1.06
7	0.91	1.59	1.39
8	1.42	0.91	1.09
9	1.29	1.02	1.01
10	1.15	0.71	0.74
11	1.20	1.13	1.04
12	0.90	0.73	0.75
13	0.90	0.71	0.71
14	1.08	1.27	1.22
15	0.75	0.99	0.94
16	0.67	1.37	1.35
17	1.04	1.71	1.45
中央値	1.00	0.99	1.01
Min	0.54	0.71	0.71
Max	1.42	1.71	1.50
Max / Min	264.1%	241.6%	211.0%
Max - Min	0.89	1.00	0.79

表５：臨床検体の中央値に対する相関の傾きの是正（濃度域 0-120ng/mL）

試薬 No.	濃度域 0-120ng/mL		
	較正前	較正後	
		血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ
1	0.97	1.00	0.97
2	1.00	0.96	0.97
3	0.95	0.97	1.00
4	0.51	0.88	0.86
5	0.66	1.55	1.60
6	1.13	1.02	1.00
7	0.80	1.47	1.31
8	1.22	0.80	1.00
9	1.20	0.99	1.01
10	1.16	0.75	0.80
11	1.14	1.11	1.05
12	1.06	0.89	0.94
13	1.20	0.99	1.02
14	1.04	1.28	1.27
15	0.64	0.87	0.85
16	0.63	1.33	1.35
17	1.01	1.73	1.51
中央値	1.01	0.99	1.00
Min	0.51	0.75	0.80
Max	1.22	1.73	1.60
Max / Min	238.9%	231.3%	200.1%
Max - Min	0.71	0.98	0.80

校正前の相関の傾きの差は、全濃度域で 264.1%、濃度域 0-120ng/mL で 238.9%であり、校正後は、それぞれ血清マトリックスで 241.6%、231.3%、Buffer マトリックで 211.0%、200.1%となり、若干の収束が見られたものの、十分な校正の効果は得られなかった。

この原因は、表６、７に示す通り、多くの試薬で WHO 標品系列と臨床検体の相関の傾きが、異なっているためである。詳細には、全 17 試薬のうち、全濃度域では、血清マトリックス 10 試薬、Buffer マトリックス 9 試薬、濃度域 0-120ng/mL では、血清マトリックス、Buffer マトリックス共に 6 試薬が、相関の傾きに±0.15 を超える差が認められた。このことから多くの試薬において、WHO 73/601 標品系列と臨床検体中の CEA 抗原に対する反応性が異なっている可能性が高いことが確認された。

表６：WHO 標品系列と臨床検体の相関の傾きの差（全濃度域）

試薬 No.	全濃度域				
	中央値に対する相関の傾き			臨床検体と WHO 標品系の傾きの差	
	WHO 標品系		臨床検体		
	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ	全濃度域	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ
1	0.98	1.00	0.97	0.01	0.03
2	1.06	1.03	1.06	0.00	-0.03
3	0.99	0.95	1.00	-0.01	-0.05
4	0.58	0.60	0.54	0.04	0.06
5	0.43	0.42	0.67	-0.23	-0.25
6	1.12	1.12	1.27	-0.16	-0.15
7	0.55	0.61	0.91	-0.35	-0.29
8	1.53	1.22	1.42	0.11	-0.20
9	1.23	1.20	1.29	-0.06	-0.09
10	1.57	1.45	1.15	0.41	0.30
11	1.03	1.08	1.20	-0.17	-0.11
12	1.20	1.12	0.90	0.30	0.22
13	1.23	1.18	0.90	0.33	0.28
14	0.82	0.82	1.08	-0.25	-0.25
15	0.74	0.74	0.75	-0.01	-0.01
16	0.48	0.46	0.67	-0.19	-0.21
17	0.59	0.67	1.04	-0.45	-0.37
中央値	0.99	1.00	1.00	1.00	1.00
Min	0.43	0.42	0.54	0.54	0.42
Max	1.57	1.45	1.42	1.42	1.45
Max / Min	361.0%	348.3%	264.1%	-	-
Max - Min	1.13	1.03	0.89	-	-

表７：WHO 標品系列と臨床検体の相関の傾きの差（濃度域 0-120n/mL）

試薬 No.	濃度域 0-120ng/mL				
	中央値に対する相関の傾き			臨床検体と WHO 標品系の傾きの差	
	WHO 標品系		臨床検体		
	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ	0-120ng/mL	血清ﾏﾄﾘｯｸｽ	Buffer ﾏﾄﾘｯｸｽ
1	0.98	1.00	0.97	0.01	0.03
2	1.06	1.03	1.00	0.06	0.03
3	0.99	0.95	0.95	0.04	0.00
4	0.58	0.60	0.51	0.07	0.09
5	0.43	0.42	0.66	-0.23	-0.25
6	1.12	1.12	1.13	-0.02	-0.01
7	0.55	0.61	0.80	-0.25	-0.19
8	1.53	1.22	1.22	0.31	0.01
9	1.23	1.20	1.20	0.02	-0.01
10	1.57	1.45	1.16	0.40	0.29
11	1.03	1.08	1.14	-0.10	-0.05
12	1.20	1.12	1.06	0.15	0.07
13	1.23	1.18	1.20	0.03	-0.03
14	0.82	0.82	1.04	-0.22	-0.22
15	0.74	0.74	0.64	0.10	0.11
16	0.48	0.46	0.63	-0.15	-0.17
17	0.59	0.67	1.01	-0.42	-0.34
中央値	0.99	1.00	1.01	1.00	1.00
Min	0.43	0.42	0.51	0.54	0.42
Max	1.57	1.45	1.22	1.42	1.45
Max / Min	361.0%	348.3%	238.9%	-	-
Max - Min	1.13	1.03	0.71	-	-

６．標

準物質の作製プロトコル

６－１　トレーサビリティ連鎖

本年度の活動においては、各試薬がどのようなトレーサビリティ方法により標準品の値付けを行っているかの調査までは至っていない。

現状においては、各試薬の値付けの方法による差が測定値差の一因となっており、将来標準化を実施する場合には、共通のトレーサビリティ体系を構築するのが望ましい。

６－２　試料の性状規格

今回の調査により、血清マトリック及び Buffer マトリックスでの測定値に差は認められなかった。しかし、今回は、凍結融解の繰り返しによる影響や長期保存での安定性の調査は行っていないので、将来標準化を実施する場合には、これらの影響も考慮してマトリックスを決定する必要がある。

６－３　値付けの方法

実検体に近いマトリックス状態の標品を上位とするトレーサビリティ体系図が最も適切な候補として挙げられる。しかし、今回の共同実験では適切なマトリックスを設定するまでには至らなかったため、標準物質の作製プロトコルを提言することは難しい。

７．今後の課題

今回の共同実験から、唯一の国際標準品である WHO 73/601 を標準物質に適用することは適切でないことが確認された。よって、今後、市販の抗原の中に適切なものがあるかどうかの確認が必要であり、多くの市販試薬で臨床検体と同様の反応性を示すことを確認基準とすることが必要である。また、市販品を使用する場合には、然るべき手法により確立した定量法で濃度決定を行わなければならないため、この手法の開発も必要となる。

８．結び

今回の共同実験により、17 試薬の測定値間差を検証したところ、最大で 260%の差があることが判明した。このばらつきにより、今回使用した WHO 73/601 による較正では改善できないことが確認された。

９．謝辞

今回の活動に際し、臨床検体をご提供いただきました、国立がんｾﾝﾀｰ中央病院病院長土屋了介先生及び臨床検査部長古田耕先生に厚く御礼申し上げます。

10.【宿題事項】

要旨

1）本項目の今年度の活動報告内容は 2007 年 2 月末に最終報告書として提出しているが、宿題事項であった臨床検体測定値からの収束性解析を実施した。

2）収束性解析は、各 WHO 標品(血清系、Buffer 系)、臨床検体の基準値を求め、その基準値に対する各試薬の臨床検体の相関の傾きにより、評価を行った。

3）校正の必要性の基準として、各試薬の臨床検体の相関の傾きが、0.90-1.10 となる試薬を較正不要としたところ、該当したものは全 17 試薬中 5 試薬(29%)であった。

4）校正が必要と判断された 12 試薬に対して、①WHO 標品(血清系)、②WHO 標品(Buffer 系)、③臨床検体の相関の傾きを補正係数として、３通りの較正を実施したところ、臨床検体の傾きを使用したものが最も収束効果が認められ、全 12 試薬で相関の傾きが、0.90-1.10 となった。

5）本解析の結果から、臨床検体を標準化物質とした場合、標準化の可能性があることが示唆された。しかし、標準化の実現のための課題として、検体群間差の確認、再現性の確認、全濃度域における十分量の臨床検体の確保、それらの基準値の設定方法の確立、各メーカーの試薬改良等、が考えられ、実現のためには多くの困難な課題を解決する必要性も示唆された。

１．目的

JCCLS 柱 1 項目群 WGC9(腫瘍ﾏｰｶｰ群)の一項目である CEA について、本年度の調査活動として、①WHO 標品「Carcinoembryonic Antigen 1st International Reference Preparation (NIBSC CODE: 73/601)」の希釈系列(血清系、Buffer 系)、②臨床検体 30 例を各試薬において測定し、データの収束性や標準化の可能性について検証を行った。その結果は、2007 年 2 月末に最終報告書を提出しているが、第 6 回会合（2007 年 2 月 23 日実施）において、宿題事項として挙げられた臨床検体測定値からの収束性解析を実施したので本書にて報告する。

２．追加解析の概要

２－１ WHO 標品、臨床検体の基準値の設定

WHO 標品の希釈系列(血清系、Buffer 系)、臨床検体の全試薬の中央値に対する傾きが、全て 0.90-1.10 となる試薬を選択したところ、３試薬が該当した(表１)。これらの試薬の各サンプルの測定値の平均を基準値とした(表２)。

表１：試薬の選択

試薬 No.	中央値に対する相関の傾き		
	WHO 標品		臨床検体
	血清系	Buffer系	
1	0.980	1.003	0.973
2	1.059	1.033	1.061
3	0.993	0.954	1.000
4	0.583	0.597	0.539
5	0.434	0.416	0.668
6	1.115	1.124	1.271
7	0.553	0.615	0.908
8	1.530	1.222	1.425
9	1.226	1.196	1.285
10	1.566	1.450	1.152
11	1.033	1.085	1.199
12	1.202	1.122	0.901
13	1.230	1.175	0.897
14	0.823	0.824	1.076
15	0.739	0.744	0.752
16	0.478	0.465	0.672
17	0.590	0.668	1.036

表２：基準値（ng/mL）の設定

検体通し No.	説明	試薬 No. 1	2	3	基準値 ng/mL
C-1	WHO 標品	0.1	0.2	-	0.1
C-2	希釈系列	0.8	0.9	0.8	0.8
C-3	(血清系)	16.8	18.4	17.5	17.5
C-4		94.9	91.0	83.7	89.9
C-5		175.7	175.9	166.0	172.5
C-6		328.3	358.3	335.0	340.5
C-7	WHO 標品	0.0	0.0	-	0.0
C-8	希釈系列	0.6	0.7	0.6	0.6
C-9	(Buffer系)	17.3	19.0	16.9	17.7
C-10		93.2	89.0	85.5	89.2
C-11		175.2	168.7	167.5	170.4
C-12		352.8	366.6	336.1	351.8
C-13	臨床検体	3.2	3.4	3.4	3.3
C-14		3.2	3.4	3.3	3.3
C-15		3.4	3.4	3.5	3.4
C-16		4.3	4.2	4.5	4.3
C-17		3.3	3.4	3.3	3.3
C-18		6.6	6.9	6.8	6.8
C-19		14.9	15.5	14.8	15.0
C-20		7.2	7.2	7.4	7.3
C-21		9.8	9.9	9.9	9.9
C-22		6.7	6.7	6.9	6.7
C-23		7.7	8.9	8.2	8.2
C-24		6.5	6.6	6.3	6.4
C-25		7.1	7.6	7.7	7.5
C-26		6.7	6.7	6.8	6.7
C-27		6.4	7.1	6.9	6.8
C-28		59.5	62.2	61.9	61.2
C-29		53.2	52.7	55.1	53.7
C-30		49.8	49.9	52.5	50.7
C-31		113.3	116.7	109.5	113.1
C-32		93.0	92.9	89.9	91.9
C-33		42.1	46.8	45.5	44.8
C-34		61.6	64.9	61.1	62.5
C-35		90.2	95.8	86.7	90.9
C-36		61.6	64.3	60.8	62.2
C-37		87.2	90.5	88.3	88.6
C-38		250.1	271.3	266.9	262.8
C-39		283.0	295.4	295.5	291.3
C-40		307.6	338.9	317.7	321.4
C-41		352.7	393.4	353.2	366.4
C-42		264.1	286.5	269.8	273.4

２－２ 校正の必要性の確認

校正の必要性の基準として、各試薬の臨床検体の相関の傾きが、0.90-1.10 となる試薬を校正不要としたところ、該当したものは全 17 試薬中 5 試薬(29%)であった(表３)。

表３：校正の必要性の確認

試薬 No.	基準値に対する傾き	較正の必要性
1	0.962	不要
2	1.050	不要
3	0.988	不要
4	0.532	要
5	0.659	要
6	1.256	要
7	0.893	要
8	1.409	要
9	1.268	要
10	1.137	要
11	1.179	要
12	0.886	要
13	0.881	要
14	1.060	不要
15	0.742	要
16	0.664	要
17	1.023	不要

２－３ 校正の適合性の確認

校正が必要性と判断された 12 試薬に対して、以下の３種を補正係数として、校正を実施した。

① WHO 標品(血清系) の基準値に対する傾き

② WHO 標品(Buffer 系) の基準値に対する傾き

③ 臨床検体の基準値に対する傾き

校正は、各試薬について、個々の臨床検体の測定値を補正係数で除した値を求め、それらの基準値に対する相関の傾きを算出した。また、校正の効果が得られたことを示す基準として、相関の傾きが 0.90-1.10 となることとした。

結果は、①WHO 標品(血清系) の傾きで４試薬、②WHO 標品(Buffer 系) の傾きで３試薬、③臨床検体の傾きで全 12 試薬の収束効果が認められた(表４)。

表４：較正の適合性の確認

試薬 No.	較正前	較正後					
	基準値に対する傾き	WHO 標品(血清系) 傾き	校正結果	WHO 標品(Buffer系) 傾き	校正結果	臨床検体 傾き	校正結果
1	0.962	不要		不要		不要	
2	1.050	不要		不要		不要	
3	0.988	不要		不要		不要	
4	0.532	0.921	適	0.890	不適	1.000	適
5	0.659	1.533	不適	1.577	不適	1.000	適
6	1.256	1.136	不適	1.114	不適	1.000	適
7	0.893	1.629	不適	1.450	不適	1.000	適
8	1.409	0.929	適	1.150	不適	1.000	適
9	1.268	1.046	適	1.057	適	1.000	適
10	1.137	0.733	不適	0.780	不適	1.000	適
11	1.179	1.154	不適	1.078	適	1.000	適
12	0.886	0.744	不適	0.788	不適	1.000	適
13	0.881	0.723	不適	0.747	不適	1.000	適
14	1.060	不要		不要		不要	
15	0.742	1.015	適	0.993	適	1.000	適
16	0.664	1.402	不適	1.422	不適	1.000	適
17	1.023	不要		不要		不要	

３．CEA の現状と今後の課題

今回の共同実験により、17 試薬の測定値間差を検証したところ、最大で 260%の差があることが判明した(CEA 最終報告書参照)。このばらつきは、今回標準化物質候補として使用した WHO 73/601 による較正では改善できないことが確認された。しかし、臨床検体を標準化物質とした場合において、測定値の収束が認められ、標準化の可能性があることが示唆された。ただし、今回の解析は、相関の傾きに限定したものであるため、各濃度域におけるばらつき及び収束性、切片の影響について検討する必要がある。

以上より、今後、標準化を実現させるためには、以下のような課題が残されており、更なる検討の必要性も示唆された。

- 切片、および各濃度域のばらつき及び収束性を考慮した校正方法の確立
- 検体群間差の確認
- 再現性の確認
- 全濃度域における十分量の臨床検体の確保、保管、運用方法の確立
- 基準値の設定方法の確立
- 各メーカーの試薬の改良

JCCLS標準化基本検討委員会 柱1ワーキンググループC9
CEA共同実験 ： WHO 73/601標品系列の作製プロトコール

[1. ベースとなる血清マトリックスの調製]
BiosPacific社製 CEA free Serum (Code P62000) をそのまま用いる。

[2. ベースとなるBufferマトリックスの調製]
試　　薬　：Sigma社製BSA (A7030)
ﾄﾘｽ (ﾋﾄﾞﾛｷｼﾒﾁﾙ) ｱﾐﾉﾒﾀﾝ (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)
塩化ﾅﾄﾘｳﾑ (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)
塩酸 (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)
組　　成　：50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4
作 製 量　：1L (必要に応じて作成量は変更可とする。以下に示す調製方法は1Lの場合である。)
調 製 方 法　：1） Tris 6.057gを精製水0.8Lに溶解する。
2） 塩化ﾅﾄﾘｳﾑ 8.766gを溶解する。
3） 塩酸を適量添加して、pHを7.3に調整する。
4） 液の回転を停止し、BSA 10gを液面に乗せて溶解する。
5） 溶液を0.95Lにﾒｽｱｯﾌﾟする。
6） 塩酸を適量添加して、pHを7.4に調整する。
7） 溶液を1Lにﾒｽｱｯﾌﾟする。
8） pHを確認する (7.4±0.1)。

[3. NIBSC標品の溶解、および5 IU/mL溶液の調製]
1.本品は凍結乾燥品である。添付の説明書に従い、0.5mLの精製水で溶解させる。
血清マトリックス検討用及びBufferマトリックス検討用に、それぞれ5本づつ溶解する。

2.ステップ(1)の内溶液を、予め適量の希釈液 (血清マトリックス検討用またはBufferマトリックス検討用) を入れておいた 100 mL メスフラスコに移す。

3.アンプルの本体部分に、アンプルの内壁を洗うように希釈液 (血清マトリックス検討用またはBufferマトリックス検討用) を加え、この液をステップ(2) 100 ml メスフラスコに移す。この動作を 5 回以上繰り返す。

4.アンプルのふた部分に、アンプルの内壁を洗うように希釈液 (血清マトリックス検討用またはBufferマトリックス検討用) を加え、この液をステップ(2) 100 ml メスフラスコに移す。この動作を 5 回以上繰り返す。

5.希釈液 (血清マトリックス検討用またはBufferマトリックス検討用) を加え、全量を100 ml とする。液が均一になるように 十分転倒混和する。

[4. NIBSC標品 血清マトリックス希釈系列の調製]
調 整 濃 度 域　：0 IU/mL、0.010 IU/mL、0.25 IU/mL、1.25 IU/mL、2.50 IU/mL、5.00 IU/mL
作 製 量　：・各社配布分 ： 各ポイント1 mL×20ヶ
・予備 (保管) 分 ： 各ポイント1 mL×6ヶ
→輸送時のトラブル対応用とする。
使用する希釈液 BioSpacific社製 CEA freeSerum
調 製 方 法　：下表の通り。なお、希釈には重量希釈法を用いる。5 IU/mL濃度のサンプルを希釈する。
5 IU/mL溶液のみ、100mLのメスフラスコを使用して調製する (3. NIBSC標品の溶解、および5 IU/mL溶液の調製を参照) 。
調 製 量　：1mL/本で26本分、バルク保存分を含め各ポイント50mLを調製。

ｻﾝﾌﾟﾙ名	C-6	C-5	C-4	C-3	C-2	C-1	
濃度	5 IU/mL	2.5 IU/mL	1.25 IU/mL	0.25 IU/mL	0.010 IU/mL	0 IU/mL	
原液 (g)	-	25.00	12.50	2.50	0.10	-	
希釈液 (g)	-	25.00	37.50	47.50	49.90	50.00	
仕上がり量 (g)	100.00	50.00	50.00	50.00	50.00	50.00	←分注分・バルク保存分と、次濃度調製分の合計値です
次濃度作製分 (g)	40.10	-	-	-	-	-	
分注使用量 (g)	26.00	26.00	26.00	26.00	26.00	26.00	←それぞれ26.0mLになります。
ﾊﾞﾙｸ保管量 (g)	33.90	24.00	24.00	24.00	24.00	-	←それぞれ24.0mL(5 IU/mLのみ33.5mL)になります。

＊) 小分け保存した各ポイントの余り溶液は、共同実験終了時までにバルク状態で凍結保管しておく。

注 意 事 項①　：表示濃度は実際の希釈倍数に基づいて算出する。従って、予定濃度と差が生まれる場合がある。

注 意 事 項②　：今回の検討では血清系とBuffer系のマトリックス間差を等しく評価する必要がある。各ﾎﾟｲﾝﾄを作製する際には、
血清系とBuffer系で希釈倍数がなるべく近くなるようにする。

保 存 ・ 配 布　：凍結保存容器に1.0mLづつ分注して-30℃以下で凍結後、各社へ配布する。保存容器の選定は担当業者へ一任する。

[5. NIBSC標品 Bufferマトリックス希釈系列の調整]
希釈液を「50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4」へ変更し、【4.】と同様に作製する。
ｻﾝﾌﾟﾙ名には、C-7～C-12を割り当てる。

[6. 備考]
・必要な凍結保存容器数 ： 312本 (26本/1希釈系列 × 6系列 × 2種類)

添付資料 1-2

JCCLS標準化基本検討委員会 柱1ワーキンググループC 9
CEA 共同実験 ： プール血清作製プロトコル

【1．材料】
2007.1.17入手 癌センター検体 下表のようにグループ分けを実施

ｸﾞﾙｰﾌﾟ①	0-5 ng/mL	20本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ②	5-20 ng/mL	40本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ③	20-250 ng/mL	40本
ｸﾞﾙｰﾌﾟ④	250-500 ng/mL	20本

検体量約 4 mL

【2．調製量】

設定濃度域	調整本数	1本あたり	検体No.
0-5 ng/mL	5本	14mL以上	C-13～17
5-20 ng/mL	10本	14mL以上	C-18～27
20-250 ng/mL	10本	14mL以上	C-28～37
250-500 ng/mL	5本	14mL以上	C-38～42

1本あたり本数の内訳：
9.5mL ： 各社発送分 (0.5mL x 19本)
4mL+α ： 予備保管分 (0.5mL x 8本 +α)

【3．プール血清の調整】

3－1．0～5ng/mL濃度域プール血清 (5本)
・「グループ①」の癌センター検体より、任意に4本を選択し、混合する。→「C-13」とする。
・同様に、残りの検体から4本ずつを任意に選択し、混合する。→「C-14～C-17」とする。

3－2．5～20ng/mL濃度域プール血清 (10本)
・「グループ②」の癌センター検体より、任意に4本を選択し、混合する。→「C-18」とする。
・同様に、残りの検体から4本ずつを任意に選択し、混合する。→「C-19～C-27」とする。

3－3．20～250ng/mL濃度域プール血清 (10本)
・「グループ③」の癌センター検体より、任意に4本を選択し、混合する。→「C-28」とする。
・同様に、残りの検体から4本ずつを任意に選択し、混合する。→「C-29～C-37」とする。

3－4．250～500ng/mL濃度域プール血清 (5本)
・「グループ④」の癌センター検体より、任意に4本を選択し、混合する。→「C-38」とする。
・同様に、残りの検体から4本ずつを任意に選択し、混合する。→「C-39～C-42」とする。

【4．処理】
・各プール血清は、遠心分離を行い、沈殿物、浮遊物を除去する。

【5．分注、保管】
各プール血清は、0.5mLずつ分注し、各社への発送まで-20℃以下(可能であれば、より低い温度)で凍結保存
分注容器には、検体No.(C-13～42)を明記したラベルを貼付する。
1本あたりの分注本数は27本以上とするが、検体量が多い場合の残量は、バルク保存でもよい。
予備分注分に関しては、調製担当メーカーで保管し、輸送トラブル等で参加メーカーより追加供与依頼があ
場合の対応分とし、本WGの活動が終了するまで保管する。

【6．備考】
必要な分注容器本数：810本 (+α) ＝ 30種類 x 27本 +α

添付資料 1-3

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9
CEA共同実験　：　検体測定に関する注意事項

① 各ｻﾝﾌﾟﾙの内容量は、約 500uL です。

② 測定は n=2 以上で実施頂き、平均値、もしくは、中央値をご報告くだ
平均値、もしくは、中央値の判断は、各社で行ってください。

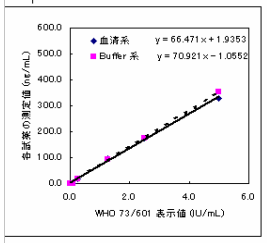
③ 検体によっては、希釈測定が必要な試薬があるかと思います。
各試薬で推奨されている方法で希釈し、値をご報告ください。

添付資料 2

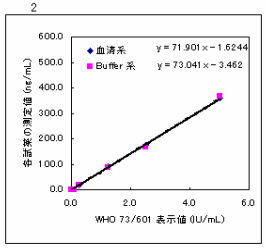
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： WHO 73/601 の表示値に対する相関

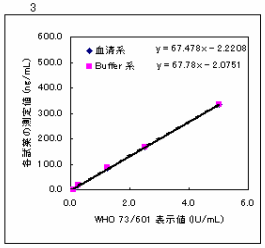
1



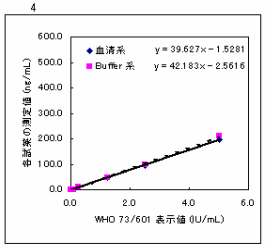
2



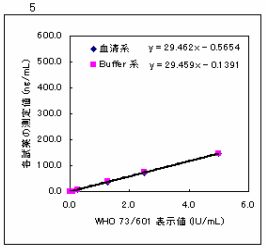
3



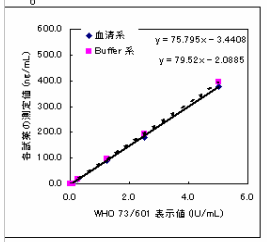
4



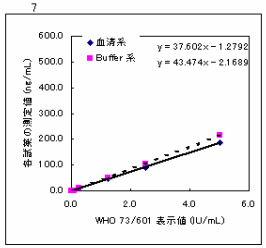
5



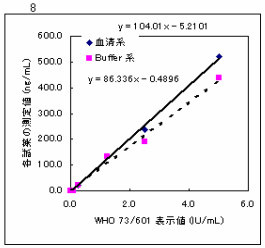
6



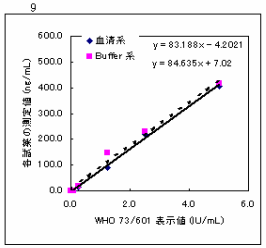
7



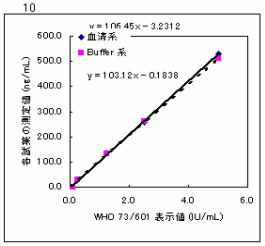
8



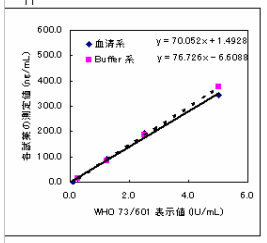
9



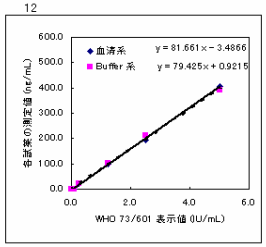
10



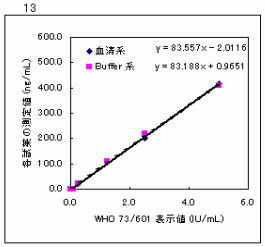
11



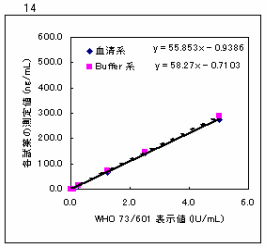
12



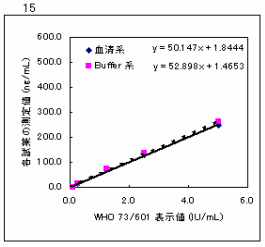
13



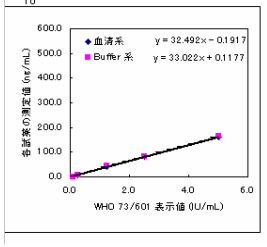
14



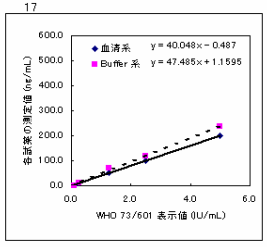
15



16



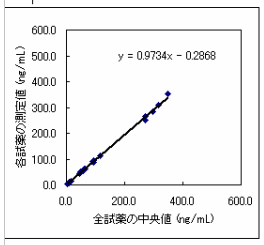
17



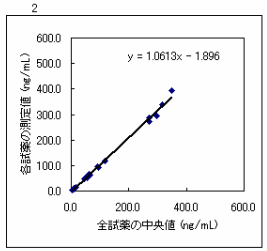
添付資料 3-1

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9
CEA共同実験 ： 臨床検体の中央値に対する相関（全濃度域）

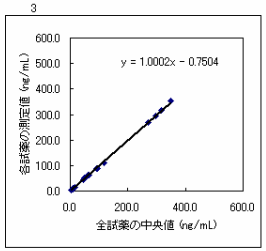
1



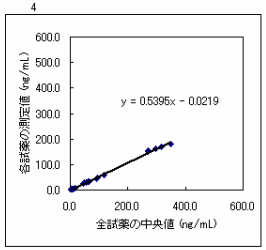
2



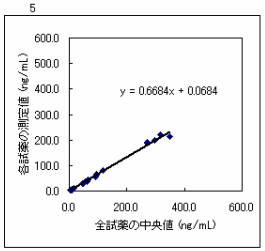
3



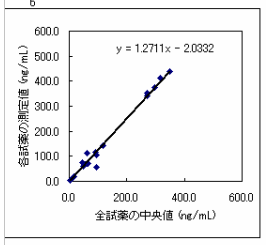
4



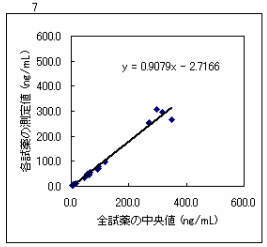
5



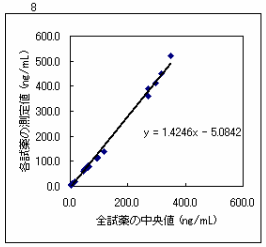
6



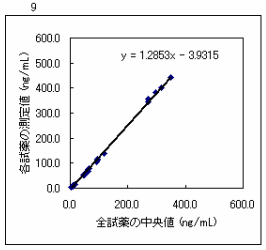
7



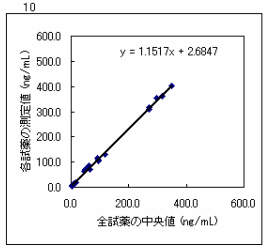
8



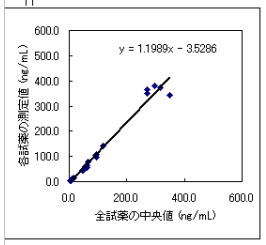
9



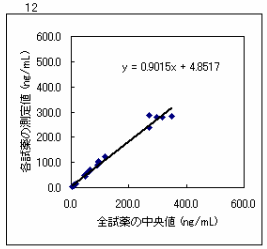
10



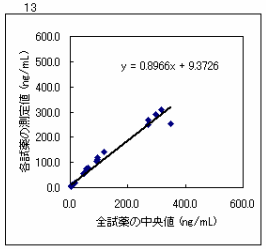
11



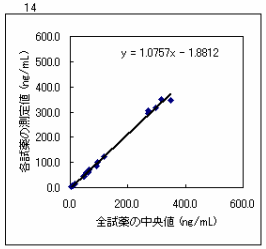
12



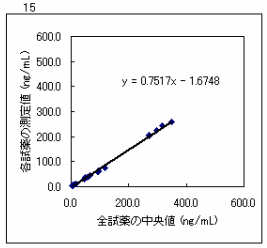
13



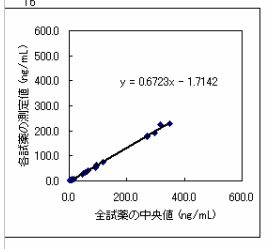
14



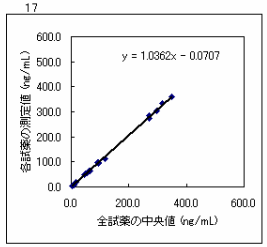
15



16



17

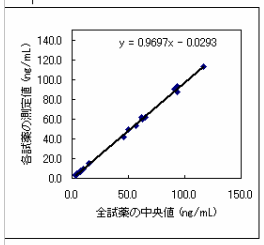


添付資料 3-2

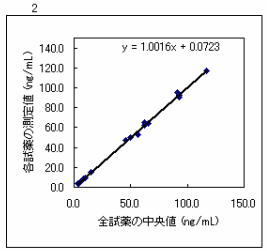
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： 臨床検体の中央値に対する相関（濃度域 0-120ng/mL）

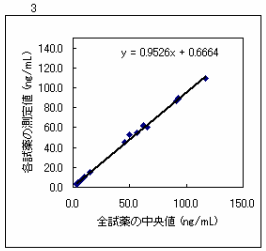
1



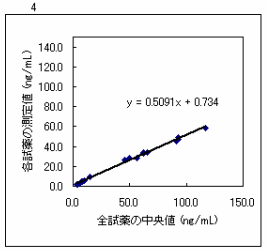
2



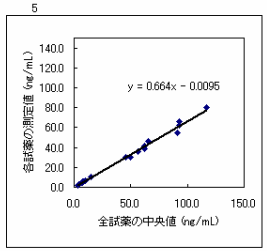
3



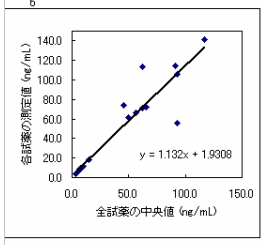
4



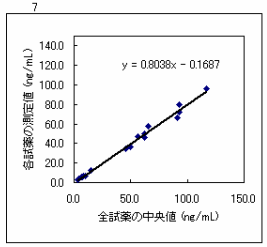
5



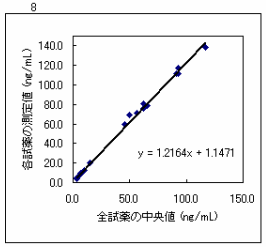
6



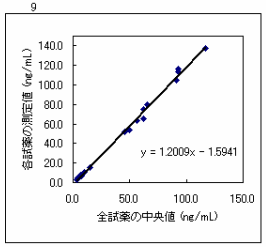
7



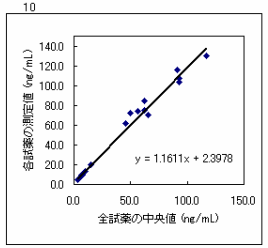
8



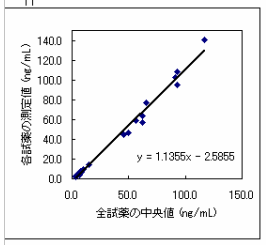
9



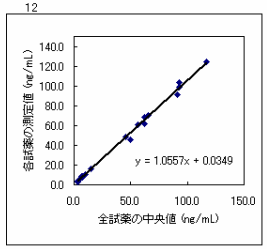
10



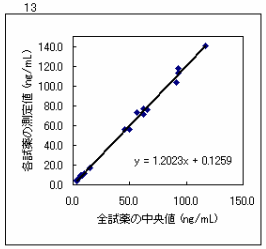
11



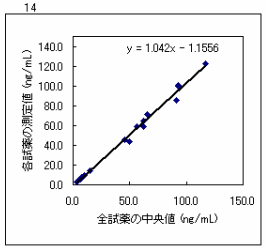
12



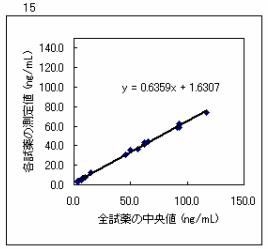
13



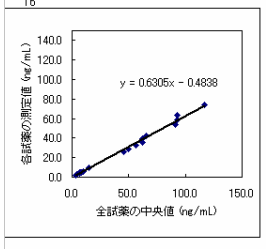
14



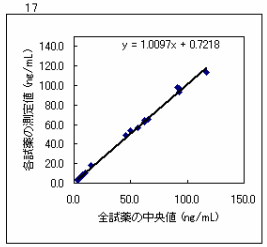
15



16



17

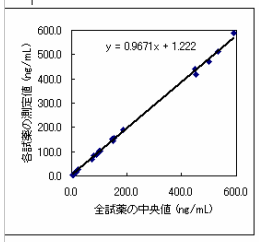


添付資料 4-1

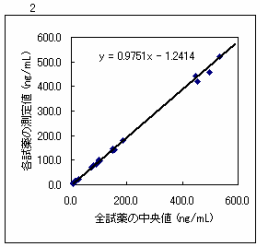
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： 較正後の臨床検体の中央値に対する相関（血清系による較正）（全濃度域）

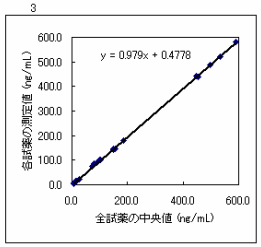
1



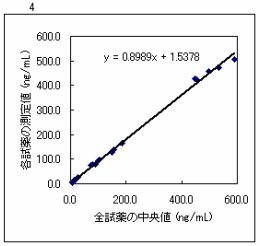
2



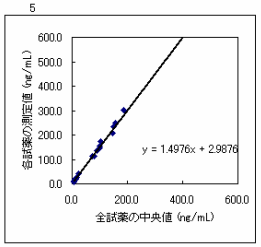
3



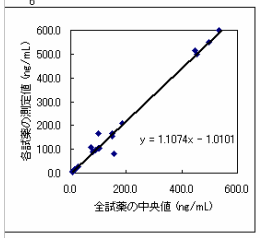
4



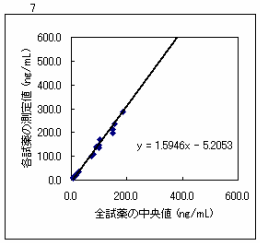
5



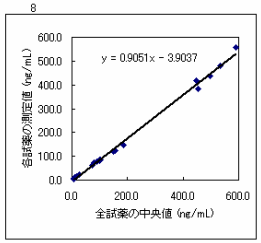
6



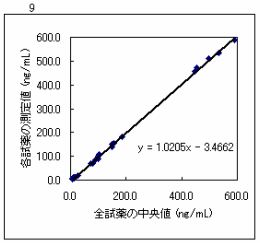
7



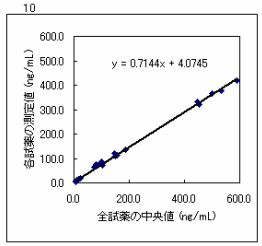
8



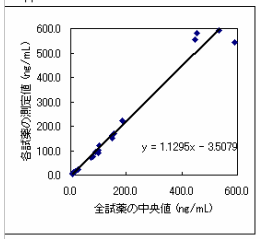
9



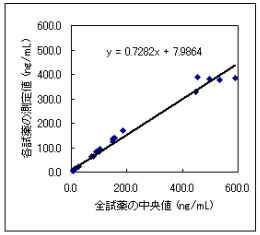
10



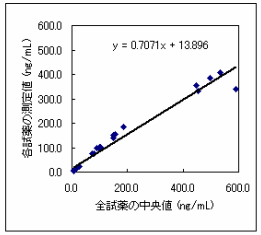
11



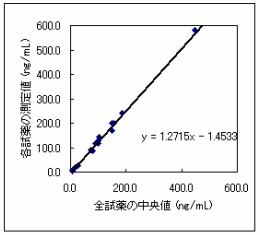
12



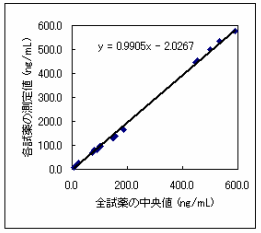
13



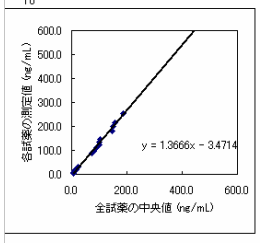
14



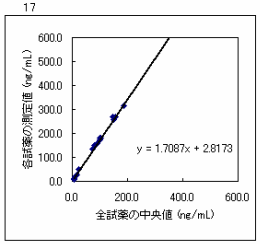
15



16



17

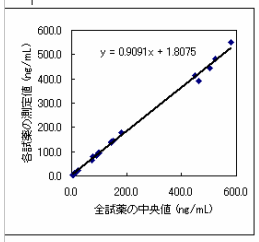


添付資料 4-2

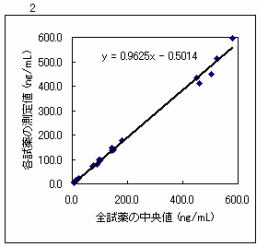
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： 較正後の臨床検体の中央値に対する相関（Buffer 系による較正）（全濃度域）

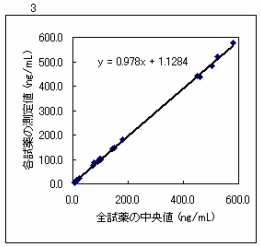
1



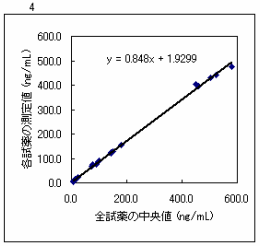
2



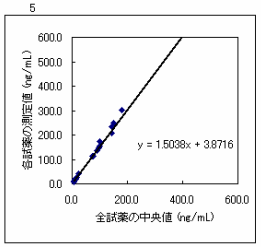
3



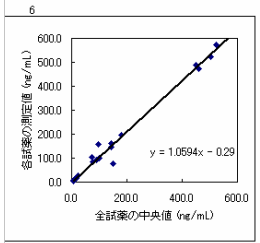
4



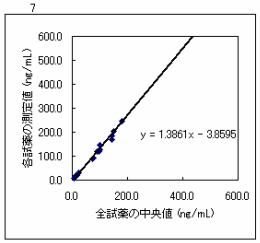
5



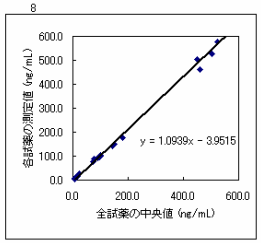
6



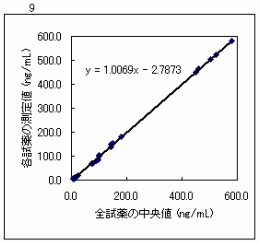
7



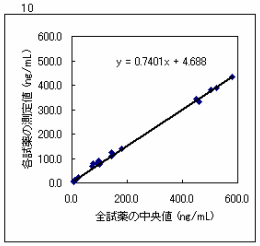
8



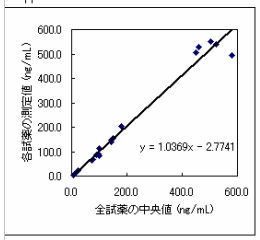
9



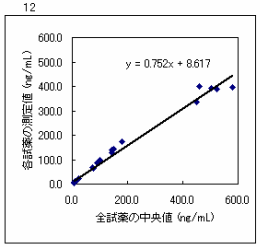
10



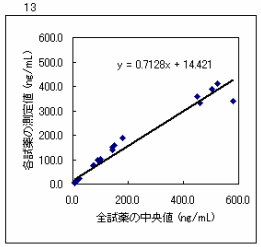
11



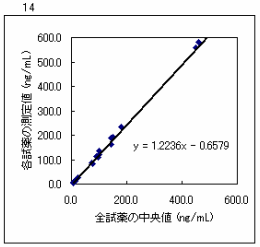
12



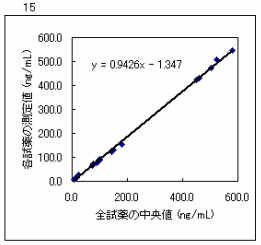
13



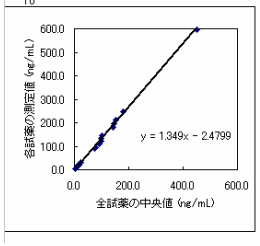
14



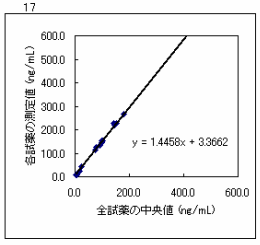
15



16



17

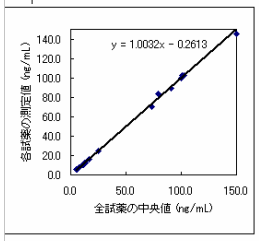


添付資料 4-3

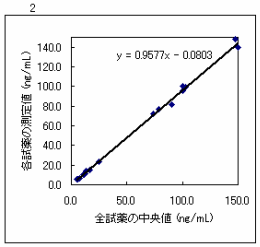
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： 較正後の臨床検体の中央値に対する相関（血清系による較正）（濃度域 0-120ng/mL）

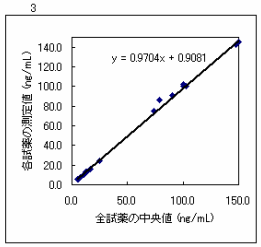
1



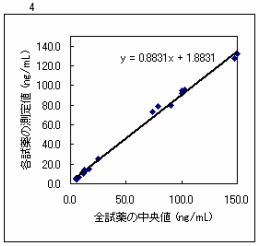
2



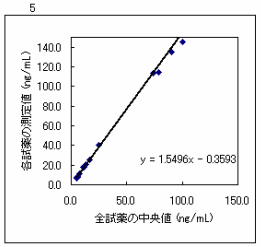
3



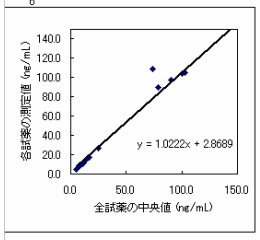
4



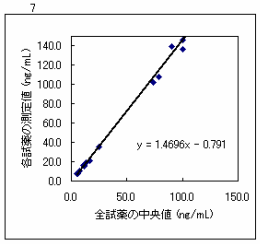
5



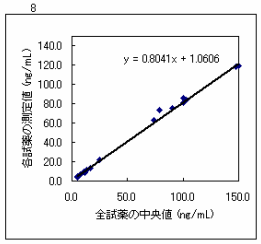
6



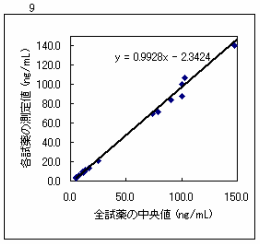
7



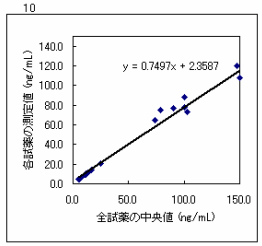
8



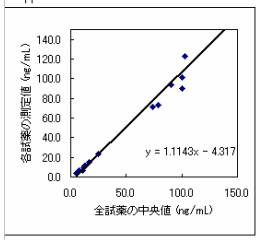
9



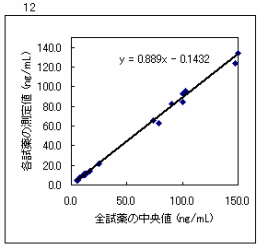
10



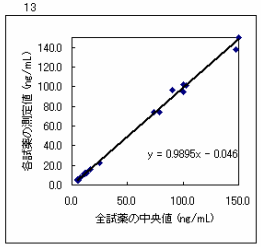
11



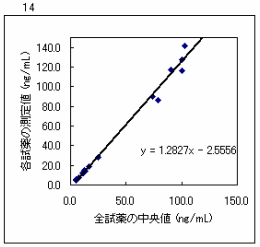
12



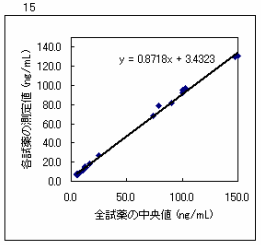
13



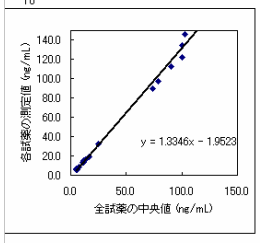
14



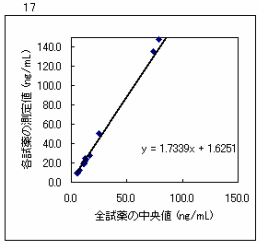
15



16



17

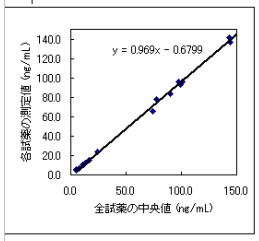


添付資料 4-4

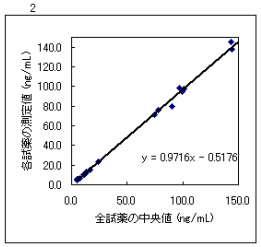
JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9

CEA共同実験 ： 較正後の臨床検体の中央値に対する相関（Buffer 系による較正）（濃度域 0-120ng/mL）

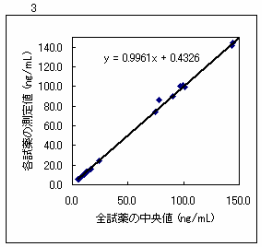
1



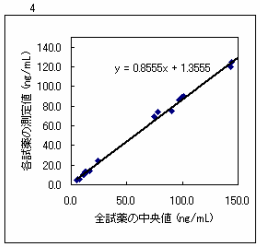
2



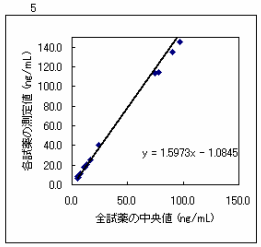
3



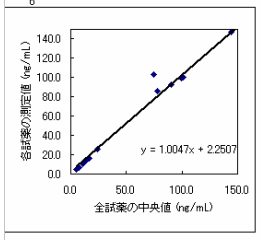
4



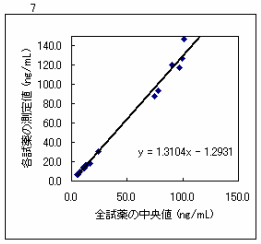
5



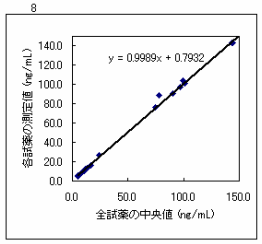
6



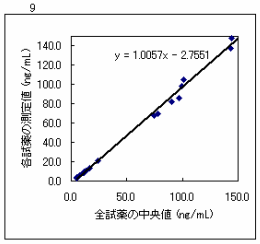
7



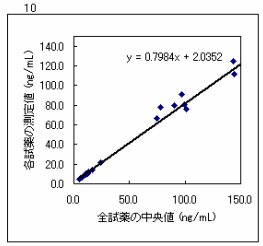
8



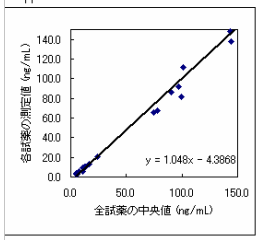
9



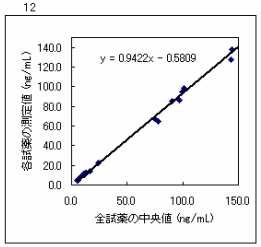
10



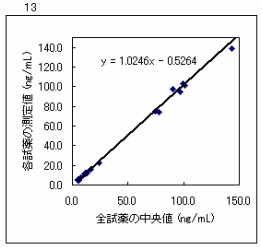
11



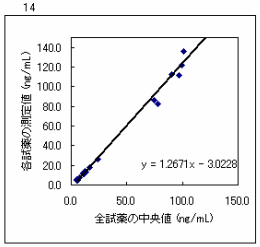
12



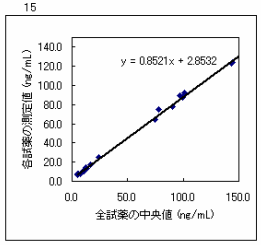
13



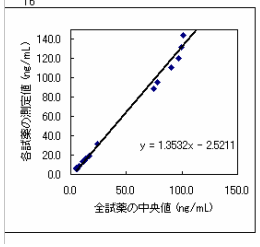
14



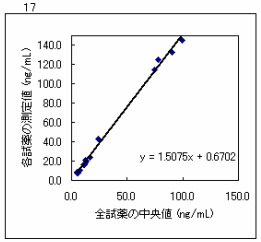
15



16



17



２－４－２－１８　フェリチン

要旨

１）標準物質候補品を使用して 23 試薬のデータ収束性について検証すると共に、実際の臨床検体を測定し、測定値間差の現状把握を行った。

２）各社試薬の値付けには、17 社中 12 社が国際標準品を使用しているが、フェリチンでは 3 種類が存在し、それぞれの由来臓器や抗原性が異なる。

３）標準物質候補品のマトリックス差（血清系と Buffer 系）はほとんどの試薬で見られなかったが、試薬差は最大 2.5 倍あり、収束性は認められなかった。

４）臨床検体測定値についても、試薬差は最大 2.5 倍であった。

５）多くの試薬において、標準物質候補品と臨床検体の測定値は近接していたことから、これら試薬差は標準物質候補品の測定値より校正することで、試薬間差を低減することができ、標準化に期待が持てる結果となった。

６）実際に標準化を実施するに際しては、使用する標準物質の選定とその濃度決定、臓器由来別の反応性の精査、標準化により測定値が大きく変動する試薬の対応など、解決すべき課題が多く残っている。

１．目的

JCCLS 柱 1 項目群 WG により実行計画が示され、腫瘍マーカー群は調査研究項目群として C9WG に分類される。フェリチンは C9WG 調査研究対象項目（8 項目）中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 2（基準①-B)」に属する。

本 WG（フェリチン）では「分類 2（基準①-B)」に基づいた実行計画を立案した。概要としては、基準となる標準品及びベースを共通化して推奨できる標準品の選定を行っていくと共に、実検体と各社測定試薬を用いて測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。

２．委員会の構成

本 WG（フェリチン）の構成メンバーを示す。但し、WG 発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18 年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
実行計画作成者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学医学部附属病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	小谷　至彦	ｱﾙﾌﾚｯｻﾌｧｰﾏ株式会社
技術担当者	藤本　栄樹	株式会社ｴｲｱﾝﾄﾞﾃｨｰ
技術担当者	阪崎　伸一郎	栄研化学株式会社
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	柏田　政義	極東製薬工業株式会社
技術担当者	山岸　昇芳	極東製薬工業株式会社
技術担当者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	大西　純	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	斉藤　憲祐	ﾃﾞｲﾄﾞ　ﾍﾞｰﾘﾝｸﾞ株式会社
技術担当者	山﨑　忠	ﾃﾞﾝｶ生研株式会社
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	藤井　淳一	日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合　2005 年 11 月 14 日（月）　13:00～16:30　（日本臨床検査薬協会会議室）
第２回会合　2006 年 3 月 9 日（木）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第３回会合　2006 年 6 月 12 日（月）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第４回会合　2006 年 7 月 7 日（金）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第５回会合　2006 年 10 月 30 日（月）　13:00～14:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合　2007 年 2 月 23 日（金）　14:00～17:00　（日本臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

フェリチンの WHO 標準品には以下の 3 種類が存在するが、参加企業にアンケートを実施したところ、17 社中 12 社でいずれかの WHO 標準品を値付けに使用していていた（表 1)。

表１．各社が値付けに使用している標準品

WHO 1st Code 80/602	WHO 2nd Code 80/578	WHO 3rd Code 94/572	その他	なし
5 社	2 社	5 社	2 社	3 社

また、「平成 17 年度日臨技臨床検査精度管理調査報告書（日本臨床衛生検査技師会）」によると、2 検体の試薬間変動係数（CV）はそれぞれ 17. 8%、18. 4%で、ばらつきが認められており、その一因として標準品の臓器由来が挙げられている。

上記 WHO 標準品 3 種類の由来も異なる。すなわち、1st（Code 80/602）はヒト肝臓由来、2nd（Code 80/578）は脾臓由来、3rd（Code 94/572）は L 鎖のリコンビナント抗原である。試薬差には、値付けに使用した WHO 標準品の種類、標準品に使用している抗原の由来臓器が関与することを考慮しなければならない。

４－２　標準化および標準物質の設定経過

現在入手可能な国際標準品としては、４－１に示した WHO 標準品のうちの 3rd Code 94/572（正式名称 3rd INTERNATIONAL STANDARD FOR FERRITIN, RECOMBINANT NIBSC code：94/572）が存在する。市販の臓器由来抗原は多数存在する。

今回の WG においては、WHO 3rd Code 94/572 と、Biospacific 社より販売されているヒト肝臓由来フェリチン（製品名 Ferritin, high purity, Human Liver, Code J81810）を共通の測定対象物質とし、その適用性を評価した。

４－３　値付けの測定方法の選択

本年度の活動においては、４－２に示した２種の測定対象物質を表示値通りに希釈して使用しており、詳細な値付けは未実施である。

５．標準物質の設定概要

５－１　実験計画書

添付資料１－１、１－２に、５－２－１の測定試料の調整プロトコルを示した。

５－２　共同実験

５－２－１　測定試料

①3rd INTERNATIONAL STANDARD FOR FERRITIN, RECOMBINANT NIBSC code：94/572（以下、WHO 標準品とする）、②Biospacific 社 Ferritin, high purity, Human Liver, code J81810（以下、精製抗原とする）、③臨床検体 30 例を使用した。

①②については、それぞれ表示値をもとに 0, 50, 100, 200, 500 ng/mL となるよう、2 種類のマトリックスで希釈して使用した。マトリックスには血清ベースとして、Biospacific 社フェリチンフリー血清、バッファーベースとして、1% BSA 含有 0.1M トリス-塩酸緩衝液（pH7.4）を選択した。

③については、国立がんセンターに予め依頼した濃度域（0～50 ng/mL、50～100 ng/mL、100～500 ng/mL、500～1000 ng/mL）別に入手した臨床検体を、濃度域ごとに必要量プールして使用した。

なお、検討に用いた臨床検体は、「JCCLS 標準化基本検討委員会　柱１：臨床検査用標準物質の研究開発で測定するヒト検体についての見解(2006 年 1 月 10 日)」に従って参加企業へ配布した。

５－２－２　測定方法

参加企業は各試薬およびキャリブレーターを使用して、おのおのの試料について 2 重測定以上の測定を実施し、平均値もしくは中央値を算出した。結果は富士レビオ株式会社が回収し、解析を実施した。

５－２－３　測定結果

①　WHO 標準品の測定結果

表２に、各試薬で測定した WHO 標準品の測定値と表示値との回帰式の傾きを示す。

試薬間の傾きの CV は 21.4%～22.1%とばらつきが認められ、最大で約 2.5 倍の開きが生じた。マトリックス間での傾きの比はいずれも 10%以内であり、影響はほとんどないと考えられた。

表２．WHO 標準品の回帰式傾き（対表示値）：各試薬別

試薬No.	表示値との相関傾き 血清マトリックス	Bufferマトリックス	マトリックス差 (血清/Buffer)
1	1.23	1.18	103.8%
2	1.36	1.36	99.8%
3	1.58	1.59	99.6%
4	0.75	0.75	101.2%
5	1.19	1.20	99.9%
6	0.88	0.89	99.2%
7	0.63	0.62	101.3%
8	0.88	0.89	98.5%
9	0.96	0.97	98.3%
10	1.05	1.09	96.5%
11	0.65	0.69	94.0%
12	1.04	0.98	105.5%
13	1.07	1.06	101.4%
14	1.05	1.05	100.0%
15	0.85	0.89	94.8%
16	0.88	0.91	96.8%
17	1.19	1.10	108.5%
18	0.93	0.93	99.4%
19	0.89	0.90	98.7%
20	0.98	0.94	104.4%
21	0.92	0.91	100.9%
22	0.82	0.81	101.7%
23	0.95	1.01	94.6%
最小値	0.63	0.62	
最大値	1.58	1.59	
最大値/最小値	2.51	2.56	
中央値	0.95	0.94	
平均値	0.99	0.99	
CV	22.1%	21.4%	

ばらつきが使用している WHO 標準品に依存しているかを確認するため、上記結果を WHO の使用標準品別にまとめたが、表３．のように最も使用されている 1st 80/602 ではむしろ収束性が悪化した。2nd 80/578 を使用している試薬は 2 試薬であるが測定値差は小さく、3rd 94/572 を使用している 6 試薬間では収束性が向上した。

表３．WHO 標準品の回帰式傾き（対表示値）：値付けに使用の WHO 標品別

使用標準品	試薬数	表示値との相関傾き (血清マトリックス) 最小値	最大値	平均値	CV
NIBSC 1st 80/602	8	0.82	1.58	1.07	26.2%
NIBSC 2nd 80/578	2	0.88	0.98	0.93	7.4%
NIBSC 3rd 94/572	6	0.89	1.19	1.01	11.0%

②精製抗原の測定結果

①と同様に、表示値に対する回帰式の傾き、および標準品ごとの傾向を示した（表 4、表５）。

表４．精製抗原の回帰式傾き（対表示値）：各試薬別

試薬No.	表示値との相関傾き 血清マトリックス	Bufferマトリックス	マトリックス差 (血清/Buffer)
1	1.07	0.95	112.6%
2	1.06	1.07	99.3%
3	1.38	1.35	102.5%
4	0.74	0.75	99.6%
5	1.06	1.05	100.4%
6	0.86	0.86	100.2%
7	0.53	0.51	103.5%
8	0.89	0.84	105.9%
9	0.78	0.78	100.9%
10	0.92	0.93	99.1%
11	0.62	0.67	93.9%
12	0.95	0.92	103.6%
13	1.02	1.01	101.6%
14	0.95	0.89	106.0%
15	0.84	0.82	102.6%
16	0.91	0.87	104.7%
17	1.07	1.19	89.5%
18	0.77	0.74	104.3%
19	0.79	0.75	104.9%
20	0.80	0.83	97.0%
21	0.81	0.86	93.7%
22	0.83	0.80	103.4%
23	0.92	0.99	92.8%
最小値	0.53	0.51	
最大値	1.38	1.35	
最大値/最小値	2.61	2.64	
中央値	0.89	0.86	
平均値	0.90	0.89	
CV	19.5%	19.8%	

表５．精製抗原の回帰式傾き（対表示値）：値付けに使用の WHO 標品別

使用標準品	試薬数	表示値との相関傾き（血清マトリックス） 最小値	最大値	平均値	CV
NIBSC 1st 80/602	8	0.81	1.38	0.98	19.6%
NIBSC 2nd 80/578	2	0.80	0.86	0.83	5.1%
NIBSC 3rd 94/572	6	0.77	1.06	0.88	13.1%

試薬間の傾きの CV は①同様、19.5%～19.8%とばらつきが認められ、最大で約 2.6 倍の開きが生じた。マトリックス間での傾きの比は 2 試薬を除いて 10%以内であり、影響は小さいと考えられた。

同じ WHO 標準品を使用している試薬間での傾向についても、①と同様に、1st 80/602 を使用している試薬ではばらつきの収束は認められず、2nd 80/578、3rd 94/572 を使用した試薬では収束性が向上した。

③臨床検体の測定結果

臨床検体 30 例を各試薬で測定し、その中央値との回帰式の傾きを示した（表６、表７）。また、相関図を添付資料－２に示した。試薬間のばらつきは①②同様、最大で約 2.5 倍の開きがあり、CV も 16.1%と良好ではなかった（個々の検体の試薬間測定値 CV は 14.1%～17.6%であった）。傾きが 0.8～1.2 の範囲外となる試薬が 4 試薬存在した。同じ標準品を使用している試薬間においての収束性はいずれの試薬間においても認められた。

表６．臨床検体の回帰式傾き（対中央値）：各試薬別

試薬No.	中央値との相関傾き
1	1.04
2	0.97
3	1.34
4	0.93
5	1.17
6	0.99
7	0.54
8	1.08
9	0.86
10	1.13
11	0.79
12	1.13
13	1.14
14	1.04
15	0.95
16	0.93
17	1.25
18	0.95
19	1.01
20	0.98
21	0.93
22	0.97
23	1.16
最小値	0.54
最大値	1.34
最大値/最小値	2.48
中央値	0.99
平均値	1.01
CV	16.1%
傾き0.9～1.1の試薬数	13
傾き0.85～1.15の試薬数	17
傾き0.8～1.2の試薬数	19
80%～120%範囲外の試薬数	4

表７．臨床検体の回帰式傾き（対中央値）：値付けに使用の WHO 標品別

使用標準品	試薬数	表示値との相関傾き（血清マトリックス）			
		最小値	最大値	平均値	CV
NIBSC 1st 80/602	8	0.93	1.34	1.04	13.9%
NIBSC 2nd 80/578	2	0.98	0.99	0.99	0.3%
NIBSC 3rd 94/572	6	0.86	1.17	1.03	11.2%

④校正による効果

①～③の結果より、フェリチンのキット間では測定値が最大 2.5 倍の測定値差が生じることが明らかになった。この原因としては、

- 各試薬が使用している標準品の反応性による差
- 各試薬の値付けの方法による差

が考えられる。そこで、各試薬の、WHO 標準品の測定値、精製抗原の測定値、臨床検体の測定値とそれぞれの中間値との相関の傾きを表８にまとめた。WHO 標準品、精製抗原測定値については、マトリックスの影響は小さいと判断し、代表として血清マトリックス使用時の結果を引用した。またその相関図（回帰式は省略）を添付資料３に掲載した。

表８．各試薬の WHO 標準品、精製抗原、臨床検体の回帰式傾き（対中央値）

	中央値との相関傾き			傾きの比	
試薬No.	①WHO標準品	②精製抗原	③臨床検体	①/③	②/③
1	1.29	1.21	1.04	123.9%	116.4%
2	1.42	1.20	0.97	145.8%	123.7%
3	1.65	1.57	1.34	123.4%	117.3%
4	0.79	0.84	0.93	84.7%	90.1%
5	1.27	1.21	1.17	108.3%	103.5%
6	0.92	0.98	0.99	93.5%	99.6%
7	0.66	0.60	0.54	122.9%	110.9%
8	0.92	1.02	1.08	85.6%	94.5%
9	1.01	0.89	0.86	117.3%	103.1%
10	1.10	1.05	1.13	97.6%	92.6%
11	0.68	0.70	0.79	85.9%	88.8%
12	1.09	1.08	1.13	97.0%	96.3%
13	1.12	1.16	1.14	98.5%	102.1%
14	1.09	1.07	1.04	105.7%	102.9%
15	0.88	0.95	0.95	93.1%	100.7%
16	0.92	1.04	0.93	98.6%	111.5%
17	1.24	1.21	1.25	99.4%	96.8%
18	0.98	0.88	0.95	102.4%	92.7%
19	0.93	0.89	1.01	92.2%	88.9%
20	1.02	0.90	0.98	103.6%	91.6%
21	0.96	0.92	0.93	102.4%	98.0%
22	0.87	0.94	0.97	89.5%	97.6%
23	1.00	1.05	1.16	85.9%	90.3%
		90%～110%の試薬数		13	16
		85%～115%の試薬数		19	20
		80%～120%の試薬数		19	22
		上記範囲外の試薬数		4	1

①WHO 標準品、もしくは②精製抗原の測定値の挙動と、③臨床検体の測定値の挙動は多くの試薬で類似しており、傾きの比よりその傾向を求めると、①WHO 標準品と③臨床検体では 23 試薬中 19 試薬で傾きの比は 80%～120%以内、②精製抗原と③臨床検体では 23 試薬中 22 試薬が傾きの比が 80%～120%以内となった。すなわち、現状の試薬間での測定値差には、各社が使用している標準品の反応性差よりも、試薬ごとの値付けの方法に起因した誤差が関与しているのではないかと思われた。この場合、共通の標準物質を用いての標準化に期待が持てる。

実際に、①WHO 標準品および②精製抗原の表示値に対する傾き（代表として血清マトリックス使用時のデータを引用）を用いて、③臨床検体測定値を校正した場合の測定値の収束性を検証した。その結果を表９に示した。またその相関図を添付資料４、５に掲載した。

校正前に比べ、最大測定値差はそれぞれ 1.7 倍、1.4 倍に是正された。特に精製抗原より校正した場合には、全キット間の傾きの CV も 10%未満となり、全ての試薬が傾き 0.8～1.2 の範囲に収束した。

以上の結果より、各社共通の標準品を使用し共通のトレーサビリティ体系による値付けを行えば、現状よりも試薬間差は是正されることが期待できる。

表９．各試薬の較正後の回帰式傾き（対中央値）

	中央値に対する傾き		
試薬No.	較正前	WHO標準品による較正後	精製抗原による較正後
1	1.04	0.80	0.86
2	0.97	0.68	0.81
3	1.34	0.80	0.85
4	0.93	1.17	1.10
5	1.17	0.93	0.97
6	0.99	1.06	1.00
7	0.54	0.82	0.90
8	1.08	1.17	1.07
9	0.86	0.85	0.96
10	1.13	1.02	1.08
11	0.79	1.16	1.11
12	1.13	1.03	1.04
13	1.14	1.01	0.98
14	1.04	0.94	0.96
15	0.95	1.06	0.99
16	0.93	1.01	0.89
17	1.25	1.00	1.03
18	0.95	0.98	1.08
19	1.01	1.07	1.12
20	0.98	0.95	1.07
21	0.93	0.97	1.02
22	0.97	1.11	1.02
23	1.16	1.15	0.98
最小値	0.54	0.68	0.81
最大値	1.34	1.17	1.12
中間値	0.99	1.01	1.00
平均値	1.01	0.99	0.99
CV	16.1%	13.3%	8.9%
最大値/最小値	2.48	1.72	1.39
傾き0.9～1.1の試薬数	13	13	17
傾き0.85～1.15の試薬数	17	16	22
傾き0.8～1.2の試薬数	19	22	23

６．標準物質の作製プロトコル

６－１　トレーサビリティ連鎖

本年度の活動においては、各試薬がどのようなトレーサビリティ方法により標準品の値付けを行っているかの調査にまでは至っていない。

現状においては、各試薬の値付けの方法による差が測定値差の一因となっているので、将来標準化を実施する場合には、共通のトレーサビリティ体系を構築するのが望ましい。

６－２　試料の性状規格

今回の調査により、血清マトリックスと Buffer マトリックスでの測定値に差は認められなかった。しかし、今回は、凍結融解の繰り返しによる影響や長期保存での安定性の調査は行っていないので、将来標準化を実施する場合には、これらの影響も考慮してマトリックスを決定する必要がある。

６－３　値付けの方法

国際的標準品など、認知されている公的な標品を標準物質として使用するのであれば、その記載濃度に従い、各社標準品の濃度を合わせ込む。公的な標品を使用しない場合には、その濃度決定から行わねばならず、然るべき手法の検討が必要になる。代表的な試薬を決め、その試薬での測定値を採用する、化学的な定量法を使用するなどの手段があると思われる。試薬ロット間差を最小にするために、各社共通の管理検体を用意して精度管理を実施するのも一案である。

７．今後の課題

共通の標準物質を使用することで、キット間の測定値差を是正できる期待は持てることが本年度の活動結果より示唆された。共通の標準物質としては、ヒト臓器由来の物質がより好ましいことが今回の WHO 標準品（L 鎖リコンビナント抗原）と精製抗原（ヒト肝臓由来品）による較正結果から示唆されたが、現時点で入手できるヒト臓器由来の国際標準品がなく、市販品を使用する場合には、その選定から着手しなければならない。今回使用した市販抗原はヒト肝臓由来品であるが、その他の臓器（脾臓・胎盤）由来の抗原によっても同様の較正効果が認められるかも検証する必要がある。

また、標準化を実施する場合、試薬によっては標準化前後で大幅な測定値変動を余儀なくされることが懸念される。現状での臨床現場のニーズを加味して標準化の可否判断を行う必要がある。

８．結び

今回、23 試薬での試薬間差を検証したところ、最大で 2.5 倍の開きがあることが判明した。このバラツキは、共通の標準物質を使用して各試薬の標準品の値付けを実施すれば是正される期待が持てることがわかった。

しかし、共通の標準品とすべき物質の由来臓器ごとの検証が未実施であること、ヒト由来の国際標準品が入手できないこと、等の事情から、現時点では、標準化に向けて解決すべき課題も多く残されている。

９．謝辞

今回の活動に際し、臨床検体をご提供いただきました、国立がんセンター中央病院病院長土屋了介先生及び臨床検査部長古田耕先生に厚く御礼申し上げます。

10.【宿題事項】

要旨

１）本項目の今年度の活動報告内容は 2007 年 2 月に最終報告書として提出しているが、宿題事項として、臨床検体測定値からの収束性解析を実施した。

２）臨床検体 30 例の全測定値が全試薬の中央値に対して 90%～110%であり、標準品サンプルの測定値も平均的な 4 試薬を代表試薬として選出した。

３）臨床検体 30 例の全測定値が中央値に対して 80%～120%の範囲に収まる試薬は、全試薬中の 61%（23 試薬中 14 試薬）であった。

４）代表試薬 4 試薬の測定値平均に対する相関性から、各社試薬の測定値を較正した。校正後の検体測定値比（対代表試薬平均値）の 30 検体平均は全ての試薬で 80%～120%となった。この較正効果は、精製抗原（Biospacific 社ヒト肝臓由来標品）測定値からの校正効果と同等であった。

１．目的

JCCLS 柱１項目群 WGC9（腫瘍ﾏｰｶｰ群）の一項目であるフェリチンについて、本年度の調査活動として、①3rd INTERNATIONAL STANDARD FOR FERRITIN, RECOMBINANT NIBSC code : 94/572（以下、WHO 標準品とする）、②Biospacific 社 Ferritin, high purity, Human Liver, code J81810（以下、精製抗原とする）、③臨床検体 30 例を各社試薬において測定し、データの収束性や標準化の可能性について検証を行った。その結果については 2007 年 2 月に、最終報告書を提出しているが、第 6 回会合（2007 年 2 月 23 日実施）において宿題事項として挙げられた、臨床検体測定値からの追加解析を実施したので本書にて報告する。

２．追加解析の概要

２－１　臨床検体測定値からの試薬分類

表１．に、各社試薬での臨床検体（No.F-21～F-50）の測定値と、各検体の中央値に対する比を

示した。最も標準的な試薬群として、30 検体全てが中央値に対して 90%～110%の範囲内である試薬と定義する（これを「第一群」とする）と、5 試薬が該当し、これに準じる試薬群として、30 例全てが中央値に対して 80%～120%の範囲内となる試薬（第一群を除く）と定義する（これを「第二群」とする）と、9 試薬が該当した。これ以外の検体は、30 例中少なくとも 1 例の測定値が、中央値に対して 80%～120%の範囲外となった。

第一群、第二群試薬の総数は 14 試薬であり、参加試薬数（23 試薬）の 61%であった。

表１．各社試薬の臨床検体測定値と、中央値に対する比

測定値

	試薬1	試薬2	試薬3	試薬4	試薬5	試薬6	試薬7	試薬8	試薬9	試薬10	試薬11	試薬12	試薬13	試薬14	試薬15	試薬16	試薬17	試薬18	試薬19	試薬20	試薬21	試薬22	試薬23	中央値
F-21	33.01	34.01	34.40	39	34.6	33.1	23.9	36.5	28.1	35.5	32.60	29.5	42.0	41.2	31.8	34.5	44.29	31.1	32.9	33.6	38.98	40.3	48.11	34.4
F-22	32.12	33.02	35.43	36	32.1	32.2	23.8	35.3	27.5	33.7	31.18	27.8	40.5	38.9	30.6	32.6	42.02	29.9	31.3	32.7	36.69	38.8	45.43	32.7
F-23	47.83	48.73	52.41	54	49.2	45.5	32.4	52.5	42.1	46.6	43.98	42.9	57.3	55.6	42.8	43.8	60.43	42.2	46.2	45.7	51.59	56.0	65.05	47.8
F-24	37.53	36.11	40.58	41	36.5	34.3	24.2	38.9	31.5	36.2	32.11	32.0	44.9	43.6	35.5	35.9	46.39	33.5	35.1	36.4	40.43	41.3	52.48	36.4
F-25	31.72	31.84	37.70	35	34.6	31.7	21.8	32.8	29.7	31.9	28.35	30.5	39.1	38.3	29.7	31.2	40.95	30.5	31.7	32.4	35.53	37.5	43.61	31.9
F-26	92.06	93.27	109.79	102	102.1	96.2	58.4	94.3	84.4	92.4	86.20	87.9	112	109	90.6	90.4	129.61	82.2	93.1	91.0	98.57	107.5	122.5	93.3
F-27	78.64	78.12	95.65	86	87.8	82.5	51.7	81.2	71.4	84.6	75.97	82.4	93.8	91.5	80.1	74.9	108.91	71.4	80.2	80.6	83.64	93.8	104.8	82.4
F-28	101.11	102.92	117.21	108	114.4	104.4	65.6	112	92.3	108.4	93.42	91.2	121	118	97.5	95.8	144.08	92.2	104.9	103.3	110.15	116.6	131.3	104.9
F-29	90.14	86.30	112.64	102	105.2	98.7	58.6	96.0	87.4	95.0	86.41	88.9	112	111	90.6	90.5	128.05	84.3	96.4	93.7	100.70	109.3	122.5	96.0
F-30	76.15	70.10	83.82	82	77.5	72.6	49.0	76.0	63.9	72.1	66.60	79.1	86.3	90.9	69.2	74.2	97.62	65.4	73.6	70.2	74.56	83.4	100.0	74.6
F-31	75.90	73.88	80.30	85	81.8	76.4	51.8	80.0	65.4	75.3	72.28	60.0	91.5	95.9	72.6	76.8	106.19	65.0	76.0	76.1	78.58	89.6	105.2	76.4
F-32	100.14	97.79	115.08	111	106.5	100.1	66.5	103	87.1	99.8	97.03	95.4	116	120	96.5	102.4	142.70	85.8	102.1	101.9	104.91	117.6	131.3	102.1
F-33	93.23	88.99	103.11	105	102.1	95.1	45.9	98.7	81.6	93.4	89.52	79.9	111	112	88.9	97.8	124.88	82.0	96.6	94.2	97.97	108.3	123.8	96.6
F-34	98.18	94.74	112.23	112	106.5	99.7	64.5	101	86.5	96.1	94.24	101.6	118	118	95.0	103.6	131.99	86.3	99.6	100.5	102.97	116.1	131.9	100.8
F-35	101.34	95.34	107.10	111	107.6	100.2	65.1	104	87.3	98.9	93.97	85.2	117	119	96.9	105.1	130.30	87.1	102.3	103.7	103.94	116.7	133.0	103.7
F-36	242.86	222.81	335.79	271	310.7	268	161	280	221.9	273.7	228.86	285.0	292	309	258.6	259.5	396.57	237.9	262.5	254.9	261.39	288.0	323.0	268.0
F-37	212.43	221.15	282.41	236	267.9	240.5	141	231	198.2	233.0	199.64	189.2	252	256	227.8	222.9	318.09	202.7	228.6	216.9	228.35	250.3	289.1	228.6
F-38	341.62	340.66	462.74	350	434.1	370.5	209	369	298.3	378.2	309.55	373.4	400	399	349.7	337.1	507.04	345.3	370.1	357.7	345.08	372.1	436.5	369.2
F-39	292.00	263.86	386.73	314	367.3	321.4	187	312	257.0	318.8	268.73	267.2	349	351	303.4	299.9	466.27	282.2	317.3	300.9	295.08	331.5	351.9	312.3
F-40	241.49	253.71	315.08	268	302.8	266.1	160	262	216.2	269.6	237.37	302.1	292	295	248.5	250.7	384.09	228.5	260.8	254.7	258.08	280.0	324.8	261.7
F-41	206.76	196.23	232.23	219	233.9	207.8	131	216	169.0	207.2	194.99	204.0	231	235	195.6	204.9	282.13	173.7	201.9	203.2	208.85	230.4	261.3	207.2
F-42	268.35	256.93	328.18	271	315.4	272.1	162	281	222.0	278.5	240.35	247.1	301	296	257.7	248.2	363.22	248.4	271.2	248.3	261.99	284.5	332.2	271.0
F-43	302.76	259.95	356.07	289	334.0	289.7	171	290	235.4	284.9	257.64	277.4	315	316	280.3	264.9	396.17	259.7	283.9	256.9	276.71	298.2	353.7	284.9
F-44	255.65	238.81	321.85	277	318.6	274.3	164	265	223.9	273.3	241.29	292.6	298	301	263.1	250.0	371.79	246.8	266.6	272.4	262.22	288.4	336.9	272.4
F-45	291.18	256.87	338.78	286	331.9	288.6	169	289	231.3	297.3	254.54	324.6	312	316	272.8	267.7	360.50	257.1	276.1	276.4	273.34	302.3	349.0	288.6
F-46	609.50	590.56	764.74	579	705.5	593.8	337	645	518.4	651.5	492.68	570.4	696	632	570.8	568.6	782.87	584.0	593.0	582.9	581.01	607.9	719.3	593.0
F-47	736.81	689.88	891.93	678	827.7	700.1	387	753	590.4	776.4	581.39	799.0	806	731	657.7	696.2	915.03	674.1	720.5	692.1	665.11	696.9	834.1	700.1
F-48	792.57	710.27	1009.79	721	864.3	741.1	413	798	654.7	870.5	596.49	835.2	902	780	709.5	700.7	1057.65	684.3	745.7	720.9	692.52	737.1	881.0	741.1
F-49	899.80	864.62	1196.05	797	995.7	849.3	468	958	764.9	966.4	667.99	986.1	949	903	823.1	788.1	907.68	824.2	887.0	886.0	827.59	838.7	1006	886.0
F-50	589.32	542.88	706.60	543	668.5	564.4	319	591	478.0	649.7	489.79	663.8	653	622	539.5	525.8	808.12	545.1	547.9	541.8	541.63	564.2	675.1	564.2

対中央値

	試薬1	試薬2	試薬3	試薬4	試薬5	試薬6	試薬7	試薬8	試薬9	試薬10	試薬11	試薬12	試薬13	試薬14	試薬15	試薬16	試薬17	試薬18	試薬19	試薬20	試薬21	試薬22	試薬23
F-21	96%	99%	100%	113%	101%	96%	70%	106%	82%	103%	95%	86%	122%	120%	92%	100%	129%	90%	96%	98%	113%	117%	140%
F-22	98%	101%	108%	111%	98%	98%	73%	108%	84%	103%	95%	85%	124%	119%	93%	100%	128%	91%	96%	100%	112%	119%	139%
F-23	100%	102%	110%	114%	103%	95%	68%	110%	88%	97%	92%	90%	120%	116%	89%	92%	126%	88%	97%	95%	108%	117%	136%
F-24	103%	99%	111%	112%	100%	94%	66%	107%	86%	99%	88%	88%	123%	120%	97%	99%	127%	92%	96%	100%	111%	113%	144%
F-25	99%	100%	118%	110%	108%	99%	68%	103%	93%	100%	89%	96%	123%	120%	93%	98%	128%	96%	99%	101%	111%	118%	137%
F-26	99%	100%	118%	109%	109%	103%	63%	101%	90%	99%	92%	94%	120%	117%	97%	97%	139%	88%	100%	98%	106%	115%	131%
F-27	95%	95%	116%	104%	107%	100%	63%	99%	87%	103%	92%	100%	114%	111%	97%	91%	132%	87%	97%	98%	102%	114%	127%
F-28	96%	98%	112%	103%	109%	100%	63%	107%	88%	103%	89%	87%	115%	113%	93%	91%	137%	88%	100%	99%	105%	111%	125%
F-29	94%	90%	117%	106%	110%	103%	61%	100%	91%	99%	90%	93%	117%	115%	94%	94%	133%	88%	100%	98%	105%	114%	128%
F-30	102%	94%	112%	110%	104%	97%	66%	102%	86%	97%	89%	106%	116%	122%	93%	99%	131%	88%	99%	94%	100%	112%	134%
F-31	99%	97%	105%	111%	107%	100%	68%	105%	86%	99%	95%	79%	120%	126%	95%	101%	139%	85%	99%	100%	103%	117%	138%
F-32	98%	96%	113%	109%	104%	98%	65%	101%	85%	98%	95%	93%	114%	118%	95%	100%	140%	84%	100%	100%	103%	115%	129%
F-33	97%	92%	107%	109%	106%	98%	48%	102%	84%	97%	93%	83%	115%	116%	92%	101%	129%	85%	100%	97%	101%	112%	128%
F-34	97%	94%	111%	111%	106%	99%	64%	100%	86%	95%	94%	101%	117%	117%	94%	103%	131%	86%	99%	100%	102%	115%	131%
F-35	98%	92%	103%	107%	104%	97%	63%	100%	84%	95%	91%	82%	113%	115%	93%	101%	126%	84%	99%	100%	100%	113%	128%
F-36	91%	83%	125%	101%	116%	100%	60%	105%	83%	102%	85%	106%	109%	115%	96%	97%	148%	89%	98%	95%	98%	107%	121%
F-37	93%	97%	124%	103%	117%	105%	62%	101%	87%	102%	87%	83%	110%	112%	100%	98%	139%	89%	100%	95%	100%	109%	126%
F-38	93%	92%	125%	95%	118%	100%	57%	100%	81%	102%	84%	101%	108%	108%	95%	91%	137%	94%	100%	97%	93%	101%	118%
F-39	93%	84%	124%	100%	118%	103%	60%	100%	82%	102%	86%	86%	112%	112%	97%	96%	149%	90%	102%	96%	94%	106%	113%
F-40	92%	97%	120%	103%	116%	102%	61%	100%	83%	103%	91%	115%	112%	113%	95%	96%	147%	87%	100%	97%	99%	107%	124%
F-41	100%	95%	112%	106%	113%	100%	63%	104%	82%	100%	94%	98%	111%	113%	94%	99%	136%	84%	97%	98%	101%	111%	126%
F-42	99%	95%	121%	100%	116%	100%	60%	104%	82%	103%	89%	91%	111%	109%	95%	92%	134%	92%	100%	92%	97%	105%	123%
F-43	106%	91%	125%	101%	117%	102%	60%	102%	83%	100%	90%	97%	111%	111%	98%	93%	139%	91%	100%	90%	97%	105%	124%
F-44	94%	88%	118%	102%	117%	101%	60%	97%	82%	100%	89%	107%	109%	111%	97%	92%	137%	91%	98%	100%	96%	106%	124%
F-45	101%	89%	117%	99%	115%	100%	59%	100%	80%	103%	88%	112%	108%	109%	95%	93%	125%	89%	96%	96%	95%	105%	121%
F-46	103%	100%	129%	98%	119%	100%	57%	109%	87%	110%	83%	96%	117%	107%	96%	96%	132%	98%	100%	98%	98%	103%	121%
F-47	105%	99%	127%	97%	118%	100%	55%	108%	84%	111%	83%	114%	115%	104%	94%	99%	131%	96%	103%	99%	95%	100%	119%
F-48	107%	96%	136%	97%	117%	100%	56%	108%	88%	117%	80%	113%	122%	105%	96%	95%	143%	92%	101%	97%	93%	99%	119%
F-49	102%	98%	135%	90%	112%	96%	53%	108%	86%	109%	75%	111%	107%	102%	93%	89%	102%	93%	100%	100%	93%	95%	114%
F-50	104%	96%	125%	96%	118%	100%	57%	105%	85%	115%	87%	118%	116%	110%	96%	93%	143%	97%	97%	96%	96%	100%	120%
最小値	91%	83%	100%	90%	98%	94%	48%	97%	80%	95%	75%	79%	107%	102%	89%	89%	102%	84%	96%	90%	93%	95%	113%
最大値	107%	102%	136%	114%	119%	105%	73%	110%	93%	117%	95%	118%	124%	126%	100%	103%	149%	98%	103%	101%	113%	119%	144%
分類	第一群	第二群			第二群	第一群		第一群	第二群	第二群					第二群	第二群		第二群	第一群	第一群	第二群	第二群	

２－２　代表試薬の選出

臨床検体測定値からの較正を試みるに際し、校正の基準となる各検体の測定値を決める必要がある。そこで、代表となる試薬を選出し、その各検体の平均値を基準値とすることにした。２－１で「第一群」として分類した 5 試薬の、WHO 標準品、及び精製抗原試料（いずれも血清マトリックスベース）の測定値について表２に示した。「試薬 1」に関しては、WHO 標準品、精製抗原いずれも、測定値に他の試薬との乖離傾向が認められたため、残りの 4 試薬を代表の試薬として選出した。

これら 4 試薬の臨床検体測定値とその平均値を表３．に示した。

表２．第一群試薬５試薬の、WHO 標準品及び精製抗原測定値

						薬20
WHO	0	0.38	0	0.00	0	0
血清	50	60.17	41.4	40.9	43.6	47.7
ﾏﾄﾘｯｸｽ	100	123.72	86.1	83.7	89.4	102.6
	200	234.42	174.8	163	179.2	198.0
	500	615.39	439.0	437	443.5	489.1
精製抗原	0	0.16	0.0	0.00	0.0	0.0
血清	50	54.74	41.0	39.7	39.1	44.6
ﾏﾄﾘｯｸｽ	100	106.60	84.1	76.9	79.2	87.1
	200	213.08	170.0	160	154.8	174.1
	500	534.68	431.1	440	394.1	403.8
対全社中央値						
WHO	50	136%	93%	92%	98%	108%
血清	100	132%	92%	89%	95%	109%
ﾏﾄﾘｯｸｽ	200	126%	94%	87%	96%	106%
	500	129%	92%	92%	93%	103%
	平均	131%	93%	90%	96%	106%
精製抗原	50	126%	94%	91%	90%	103%
血清	100	122%	97%	88%	91%	100%
ﾏﾄﾘｯｸｽ	200	123%	98%	92%	89%	100%
	500	122%	98%	100%	90%	92%
	平均	123%	97%	93%	90%	99%

表３．代表試薬 4 試薬の臨床検体測定値とその平均値

	試薬6	試薬8	試薬19	試薬20	平均値
F-21	33.1	36.5	32.9	33.6	34.0
F-22	32.2	35.3	31.3	32.7	32.9
F-23	45.5	52.5	46.2	45.7	47.5
F-24	34.3	38.9	35.1	36.4	36.2
F-25	31.7	32.8	31.7	32.4	32.1
F-26	96.2	94.3	93.1	91.0	93.6
F-27	82.5	81.2	80.2	80.6	81.1
F-28	104.4	112	104.9	103.3	106.1
F-29	98.7	96.0	96.4	93.7	96.2
F-30	72.6	76.0	73.6	70.2	73.1
F-31	76.4	80.0	76.0	76.1	77.1
F-32	100.1	103	102.1	101.9	101.8
F-33	95.1	98.7	96.6	94.2	96.1
F-34	99.7	101	99.6	100.5	100.1
F-35	100.2	104	102.3	103.7	102.6
F-36	268	280	262.5	254.9	266.4
F-37	240.5	231	228.6	216.9	229.2
F-38	370.5	369	370.1	357.7	366.9
F-39	321.4	312	317.3	300.9	313.0
F-40	266.1	262	260.8	254.7	260.8
F-41	207.8	216	201.9	203.2	207.3
F-42	272.1	281	271.2	248.3	268.1
F-43	289.7	290	283.9	256.9	280.2
F-44	274.3	265	266.6	272.4	269.6
F-45	288.6	289	276.1	276.4	282.5
F-46	593.8	645	593.0	582.9	603.7
F-47	700.1	753	720.5	692.1	716.5
F-48	741.1	798	745.7	720.9	751.3
F-49	849.3	958	887.0	886.0	895.1
F-50	564.4	591	547.9	541.8	561.4

２－３　臨床検体測定値の校正

代表試薬として選出した 4 試薬の臨床検体測定値平均をもとに、各社試薬の測定値を較正した。その方法として、

- 代表試薬の測定値平均に対する各社試薬の測定値の相関図を作成。
- 回帰式の傾きを校正用の係数（A）とする。
- 各社試薬の測定値を校正係数（A）で校正する（測定値/ A）。
- 校正後の値と、代表試薬の測定値平均に対する比（30 検体の平均）を試薬ごとに算出する。（回帰式の傾きは、統計処理上、全ての試薬で 1 となる）。

この結果を表４．および表５．に示した。表４．には、各試薬の校正後の測定値と代表試薬平均に対する比を、表５．には、校正前後での測定値比（対代表試薬平均の 30 例の平均値）を、それぞれ示した。表５．には、参考として、最終報告書に記載済みの、臨床検体測定値を WHO 標準品、精製抗原で校正した場合の効果（較正後の回帰式傾き）も併せて示した。

また、添付資料１．に、各試薬の校正前後における代表試薬の測定値平均に対する相関図を示した。

表４．代表試薬測定値平均との相関より校正した各試薬測定値

校正後の値

	試薬1	試薬2	試薬3	試薬4	試薬5	試薬6	試薬7	試薬8	試薬9	試薬10	試薬11	試薬12	試薬13	試薬14	試薬15	試薬16	試薬17	試薬18	試薬19	試薬20	試薬21	試薬22	試薬23	最小値	最大値	最大値／最小値	代表試薬平均値
F-21	32.1	35.5	26.0	42.4	29.9	34.0	44.8	34.4	33.1	31.8	41.7	26.6	37.5	40.3	34.1	37.6	35.9	33.1	33.1	34.6	42.3	42.2	42.1	26.0	44.8	1.72	34.0
F-22	31.3	34.4	26.8	39.5	27.8	33.1	44.5	33.2	32.4	30.2	39.9	25.0	36.2	38.1	32.8	35.5	34.0	31.8	31.5	33.7	39.8	40.7	39.7	25.0	44.5	1.78	32.9
F-23	46.6	50.8	39.7	59.1	42.5	46.7	60.8	49.4	49.6	41.8	56.3	38.6	51.1	54.4	45.9	47.7	48.9	44.9	46.5	47.1	56.0	58.7	56.9	38.6	60.8	1.57	47.5
F-24	36.5	37.7	30.7	44.2	31.6	35.2	45.3	36.6	37.1	32.5	41.1	28.8	40.1	42.7	38.0	39.1	37.6	35.6	35.4	37.5	43.9	43.3	45.9	28.8	45.9	1.59	36.2
F-25	30.9	33.2	28.5	38.1	29.9	32.6	40.9	30.8	35.0	28.6	36.3	27.5	34.9	37.5	31.8	34.0	33.2	32.4	31.9	33.3	38.5	39.3	38.1	27.5	40.9	1.49	32.1
F-26	89.6	97.3	83.1	111.0	88.3	98.8	109.4	88.7	99.5	82.9	110.3	79.2	100.0	106.7	97.1	98.5	104.9	87.4	93.8	93.7	106.9	112.7	107.1	79.2	112.7	1.42	93.6
F-27	76.6	81.5	72.4	93.5	75.9	84.7	97.0	76.4	84.1	75.9	97.2	74.2	83.7	89.6	85.8	81.6	88.2	76.0	80.8	83.1	90.7	98.3	91.7	72.4	98.3	1.36	81.1
F-28	98.4	107.3	88.7	117.8	98.9	107.2	123.0	105.3	108.8	97.3	119.5	82.1	108.0	115.7	104.5	104.3	116.6	98.1	105.7	106.5	119.5	122.2	114.8	82.1	123.0	1.50	106.1
F-29	87.8	90.0	85.3	111.0	90.9	101.4	110.0	90.3	103.0	85.2	110.5	80.1	100.0	108.2	97.1	98.5	103.7	89.7	97.1	96.5	109.2	114.6	107.1	80.1	114.6	1.43	96.2
F-30	74.1	73.1	63.4	88.8	67.0	74.6	91.8	71.5	75.3	64.7	85.2	71.2	77.0	89.0	74.2	80.8	79.0	69.6	74.2	72.3	80.9	87.4	87.5	63.4	91.8	1.45	73.1
F-31	73.9	77.1	60.8	92.1	70.7	78.5	97.2	75.2	77.1	67.6	92.5	54.0	81.7	93.9	77.8	83.7	86.0	69.1	76.6	78.4	85.2	93.9	92.0	54.0	97.2	1.80	77.1
F-32	97.5	102.0	87.1	121.1	92.1	102.8	124.7	97.1	102.6	89.5	124.1	85.9	103.5	117.7	103.4	111.5	115.5	91.3	102.9	105.0	113.8	123.3	114.8	85.9	124.7	1.45	101.8
F-33	90.8	92.8	78.1	114.2	88.3	97.7	86.1	92.8	96.2	83.8	114.5	72.0	99.1	109.5	95.3	106.5	101.1	87.2	97.3	97.0	106.3	113.5	108.3	72.0	114.5	1.59	96.1
F-34	95.6	98.8	85.0	122.2	92.1	102.4	121.0	94.8	101.9	86.2	120.6	91.5	105.3	115.7	101.8	112.8	106.9	91.8	100.3	103.5	111.7	121.7	115.3	85.0	122.2	1.44	100.1
F-35	98.7	99.4	81.1	121.1	93.0	102.9	122.1	97.9	102.9	88.7	120.2	76.7	104.4	116.8	103.8	114.5	105.5	92.7	103.1	106.8	112.7	122.3	116.3	76.7	122.3	1.59	102.6
F-36	236.5	232.4	254.2	294.8	268.6	275.2	302.7	263.5	261.5	245.6	292.8	256.7	260.6	302.0	277.1	282.7	321.0	253.1	264.5	262.6	283.5	301.8	282.5	232.4	321.0	1.38	266.4
F-37	206.8	230.7	213.8	257.1	231.6	247.0	263.8	217.2	233.6	209.0	255.4	170.4	224.9	250.7	244.1	242.8	257.5	215.6	230.3	223.4	247.7	262.3	252.8	170.4	263.8	1.55	229.2
F-38	332.6	355.3	350.3	381.1	375.3	380.5	391.9	347.3	351.5	339.3	396.0	336.3	357.0	390.3	374.8	367.1	410.5	367.3	372.9	368.5	374.3	390.0	381.7	332.6	410.5	1.23	366.9
F-39	284.3	275.2	292.8	341.2	317.5	330.0	350.0	293.8	302.9	286.0	343.8	240.7	311.5	343.2	325.2	326.7	377.5	300.2	319.7	310.1	320.1	347.4	307.8	240.7	377.5	1.57	313.0
F-40	235.1	264.6	238.5	291.9	261.8	273.3	299.9	246.2	254.8	241.9	303.7	272.1	260.6	288.7	266.3	273.1	310.9	243.1	262.8	262.5	279.9	293.5	284.0	235.1	310.9	1.32	260.8
F-41	201.3	204.7	175.8	238.6	202.2	213.4	245.9	203.4	199.2	185.9	249.4	183.7	206.2	229.7	209.6	223.2	228.4	184.8	203.4	209.4	226.5	241.5	228.5	175.8	249.4	1.42	207.3
F-42	261.3	268.0	248.4	294.8	272.7	279.4	303.5	264.1	261.6	249.9	307.5	222.5	268.7	290.1	276.2	270.4	294.0	264.2	273.2	255.9	284.2	298.2	290.5	222.5	307.5	1.38	268.1
F-43	294.8	271.1	269.6	314.4	288.7	297.5	320.8	273.2	277.4	255.6	329.6	249.8	281.2	309.4	300.4	288.5	320.7	276.3	286.0	264.7	300.1	312.5	309.3	249.8	329.6	1.32	280.2
F-44	248.9	249.1	243.6	301.3	275.4	281.7	307.0	249.3	263.9	245.2	308.7	263.5	266.0	294.8	282.0	272.3	301.0	262.5	268.6	280.6	284.4	302.3	294.6	243.6	308.7	1.27	269.6
F-45	283.5	267.9	256.5	310.7	286.9	296.4	317.5	271.8	272.6	266.7	325.6	292.3	278.5	309.1	292.4	291.6	291.8	273.5	278.2	284.8	296.5	316.8	305.2	256.5	325.6	1.27	282.5
F-46	593.5	616.0	578.9	629.5	609.9	609.8	632.5	606.7	610.9	584.5	630.3	513.7	621.3	618.7	611.7	619.3	633.8	621.2	597.5	600.5	630.2	637.1	629.0	513.7	637.1	1.24	603.7
F-47	717.4	719.6	675.2	737.9	715.6	718.9	725.9	708.6	695.8	696.6	743.7	719.6	719.4	715.9	704.9	758.3	740.8	717.1	725.9	713.1	721.4	730.4	729.4	675.2	758.3	1.12	716.5
F-48	771.7	740.8	764.4	784.6	747.2	761.0	774.1	750.4	771.5	781.0	763.1	752.2	805.1	763.8	760.4	763.2	856.2	727.9	751.3	742.7	751.2	772.5	770.4	727.9	856.2	1.18	751.3
F-49	876.1	901.8	905.4	867.0	860.8	872.2	876.6	901.4	901.4	867.0	854.5	888.1	847.1	884.2	882.1	858.4	734.8	876.7	893.7	912.9	897.7	879.0	880.0	734.8	912.9	1.24	895.1
F-50	573.8	566.2	534.9	591.0	577.9	579.6	598.3	556.3	563.3	582.9	626.6	597.8	582.9	608.8	578.2	572.6	654.2	579.8	552.0	558.2	587.5	591.3	590.3	534.9	654.2	1.22	561.4

対代表試薬平均

	試薬1	試薬2	試薬3	試薬4	試薬5	試薬6	試薬7	試薬8	試薬9	試薬10	試薬11	試薬12	試薬13	試薬14	試薬15	試薬16	試薬17	試薬18	試薬19	試薬20	試薬21	試薬22	試薬23
F-21	94%	104%	77%	125%	88%	100%	132%	101%	97%	94%	123%	78%	110%	119%	100%	111%	105%	97%	97%	102%	124%	124%	124%
F-22	95%	105%	82%	120%	84%	101%	135%	101%	99%	92%	121%	76%	110%	116%	100%	108%	103%	97%	96%	103%	121%	124%	121%
F-23	98%	107%	84%	124%	90%	98%	128%	104%	105%	88%	119%	81%	108%	115%	97%	101%	103%	95%	98%	99%	118%	124%	120%
F-24	101%	104%	85%	122%	87%	97%	125%	101%	103%	90%	114%	80%	111%	118%	105%	108%	104%	99%	98%	104%	121%	120%	127%
F-25	96%	103%	89%	118%	93%	101%	127%	96%	109%	89%	113%	85%	109%	117%	99%	106%	103%	101%	99%	104%	120%	122%	119%
F-26	96%	104%	89%	119%	94%	106%	117%	95%	106%	89%	118%	85%	107%	114%	104%	105%	112%	93%	100%	100%	114%	120%	114%
F-27	94%	100%	89%	115%	94%	104%	120%	94%	104%	94%	120%	91%	103%	110%	106%	101%	109%	94%	100%	102%	112%	121%	113%
F-28	93%	101%	84%	111%	93%	101%	116%	99%	102%	92%	113%	77%	102%	109%	98%	98%	110%	92%	100%	100%	113%	115%	108%
F-29	91%	94%	89%	115%	95%	105%	114%	94%	107%	89%	115%	83%	104%	112%	101%	102%	108%	93%	101%	100%	114%	119%	111%
F-30	101%	100%	87%	122%	92%	102%	126%	98%	103%	88%	117%	97%	105%	122%	101%	111%	108%	95%	101%	99%	111%	120%	120%
F-31	96%	100%	79%	119%	92%	102%	126%	98%	100%	88%	120%	70%	106%	122%	101%	109%	111%	90%	99%	102%	111%	122%	119%
F-32	96%	100%	86%	119%	90%	101%	122%	95%	101%	88%	122%	84%	102%	116%	102%	109%	113%	90%	101%	103%	112%	121%	113%
F-33	94%	97%	81%	119%	92%	102%	90%	97%	100%	87%	119%	75%	103%	114%	99%	111%	105%	91%	101%	101%	111%	118%	113%
F-34	95%	99%	85%	122%	92%	102%	121%	95%	102%	86%	120%	91%	105%	116%	102%	113%	107%	92%	100%	103%	112%	122%	115%
F-35	96%	97%	79%	118%	91%	100%	119%	95%	100%	87%	117%	75%	102%	114%	101%	112%	103%	90%	100%	104%	110%	119%	113%
F-36	89%	87%	95%	111%	101%	103%	114%	99%	98%	92%	110%	96%	98%	113%	104%	106%	121%	95%	99%	99%	106%	113%	106%
F-37	90%	101%	93%	112%	101%	108%	115%	95%	102%	91%	111%	74%	98%	109%	107%	106%	112%	94%	100%	97%	108%	114%	110%
F-38	91%	97%	95%	104%	102%	104%	107%	95%	96%	92%	108%	92%	97%	106%	102%	100%	112%	100%	102%	100%	102%	106%	104%
F-39	91%	88%	94%	109%	101%	105%	112%	94%	97%	91%	110%	77%	100%	110%	104%	104%	121%	96%	102%	99%	102%	111%	98%
F-40	90%	101%	91%	112%	100%	105%	115%	94%	98%	93%	116%	104%	100%	111%	102%	105%	119%	93%	101%	101%	107%	113%	109%
F-41	97%	99%	85%	115%	98%	103%	119%	98%	96%	90%	120%	89%	99%	111%	101%	108%	110%	89%	98%	101%	109%	116%	110%
F-42	97%	100%	93%	110%	102%	104%	113%	99%	98%	93%	115%	83%	100%	108%	103%	101%	110%	99%	102%	95%	106%	111%	108%
F-43	105%	97%	96%	112%	103%	106%	114%	97%	99%	91%	118%	89%	100%	110%	107%	103%	114%	99%	102%	94%	107%	112%	110%
F-44	92%	92%	90%	112%	102%	104%	114%	92%	98%	91%	115%	98%	99%	109%	105%	101%	112%	97%	100%	104%	106%	112%	109%
F-45	100%	95%	91%	110%	102%	105%	112%	96%	96%	94%	115%	103%	99%	109%	103%	103%	103%	97%	98%	101%	105%	112%	108%
F-46	98%	102%	96%	104%	101%	101%	105%	101%	101%	97%	104%	85%	103%	102%	101%	103%	105%	103%	99%	99%	104%	106%	104%
F-47	100%	100%	94%	103%	100%	100%	101%	99%	97%	97%	104%	100%	100%	100%	98%	106%	103%	100%	101%	100%	101%	102%	102%
F-48	103%	99%	102%	104%	99%	101%	103%	100%	103%	104%	102%	100%	107%	102%	101%	102%	114%	97%	100%	99%	100%	103%	103%
F-49	98%	101%	101%	97%	96%	97%	98%	101%	101%	97%	95%	99%	95%	99%	99%	96%	82%	98%	100%	102%	100%	98%	98%
F-50	102%	101%	95%	105%	103%	103%	107%	99%	100%	104%	112%	107%	104%	108%	103%	102%	117%	103%	98%	99%	105%	105%	105%
平均	**96%**	**99%**	**89%**	**114%**	**96%**	**102%**	**116%**	**97%**	**101%**	**92%**	**114%**	**88%**	**103%**	**111%**	**102%**	**105%**	**109%**	**96%**	**100%**	**101%**	**110%**	**115%**	**111%**
最小値	**89%**	**87%**	**77%**	**97%**	**84%**	**97%**	**90%**	**92%**	**96%**	**86%**	**95%**	**70%**	**95%**	**99%**	**97%**	**96%**	**82%**	**89%**	**96%**	**94%**	**100%**	**98%**	**98%**
最大値	**105%**	**107%**	**102%**	**125%**	**103%**	**108%**	**135%**	**104%**	**109%**	**104%**	**123%**	**107%**	**111%**	**122%**	**107%**	**113%**	**121%**	**103%**	**102%**	**104%**	**124%**	**124%**	**127%**

表５．各試薬の臨床検体測定値の校正効果

	代表試薬に対する傾き、もしくは測定値比			cf.標準試料による較正後	
試薬No.	較正前 (傾き)	較正前 (測定値比)	較正後 (測定値比)	WHO標準品 (傾き)	精製抗原 (傾き)
1	1.03	0.99	0.96	0.80	0.86
2	0.96	0.95	0.99	0.68	0.81
3	1.32	1.18	0.89	0.80	0.85
4	0.92	1.04	1.14	1.17	1.10
5	1.16	1.11	0.96	0.93	0.97
6	0.97	1.00	1.02	1.06	1.00
7	0.53	0.62	1.16	0.82	0.90
8	1.06	1.04	0.97	1.17	1.07
9	0.85	0.85	1.01	0.85	0.96
10	1.11	1.02	0.92	1.02	1.08
11	0.78	0.89	1.14	1.16	1.11
12	1.11	0.97	0.88	1.03	1.04
13	1.12	1.15	1.03	1.01	0.98
14	1.02	1.14	1.11	0.94	0.96
15	0.93	0.95	1.02	1.06	0.99
16	0.92	0.96	1.05	1.01	0.89
17	1.24	1.34	1.09	1.00	1.03
18	0.94	0.90	0.96	0.98	1.08
19	0.99	0.99	1.00	1.07	1.12
20	0.97	0.98	1.01	0.95	1.07
21	0.92	1.01	1.10	0.97	1.02
22	0.95	1.10	1.15	1.11	1.02
23	1.14	1.27	1.11	1.15	0.98
最小値	0.53	0.62	0.88	0.68	0.81
最大値	1.32	1.34	1.16	1.17	1.12
平均値	1.00	1.02	1.03	0.99	0.99
CV	16.1%	14.5%	8.1%	13.3%	8.9%
最大値/最小値	2.48	2.18	1.32	1.72	1.39
傾きもしくは比の平均が0.9～1.1の試薬数	13	14	15	13	17
傾きもしくは比の平均が0.85～1.15の試薬	18	19	22	16	22
傾きもしくは比の平均が0.8～1.2の試薬数	19	20	23	22	23

２－４　校正による効果

表５．に示したように、各社臨床検体測定値を、代表試薬測定値との回帰式の傾きより校正した場合、試薬間差（測定値比の最大値/ 最小値）は校正前の 2.18 から 1.32 となり、また全ての試薬において校正後の比の平均は 0.8～1.2 の範囲内となった。結果、代表的な試薬を選出し、その平均値を元に較正することでの校正効果が認められた。その効果の程度は、精製抗原による校正効果と同等であると考えられる。

また、表４．より、校正後の測定値の試薬間差は、最大で 1.8 倍見られるが、ばらつきは低値側の検体で大きい傾向があり、高値の検体では試薬間差は 1.2 倍～1.3 倍と比較的収束性が高い。低値検体のばらつきには、試薬の希釈直線性も起因している可能性がある。

３．フェリチンの現状と今後の課題

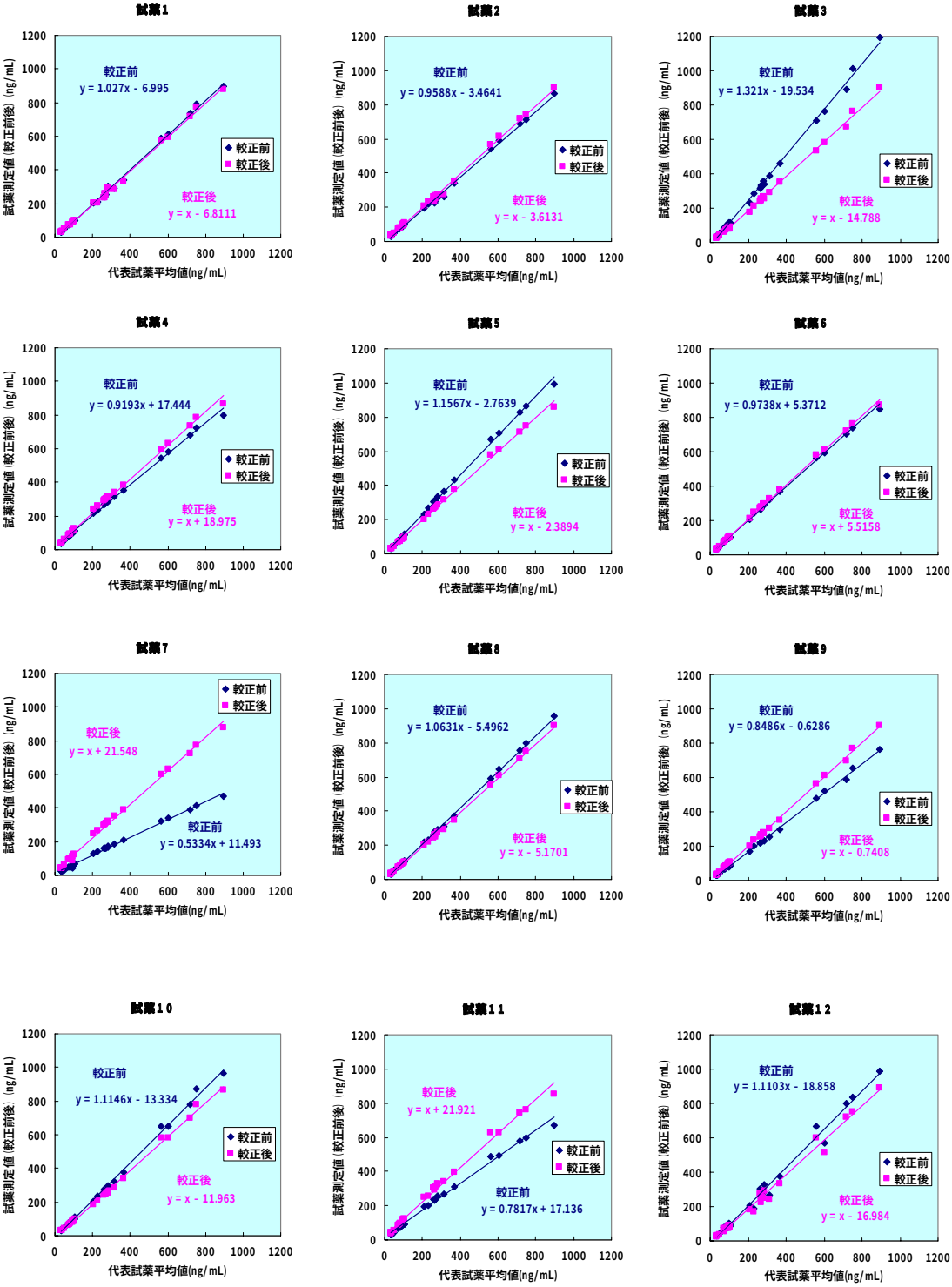
2007 年 2 月提出の最終報告書にも記載しているが、臨床検体を 23 試薬で測定すると、試薬間で最大 2.5 倍の測定値差が生じる。また、今回測定した 30 例の臨床検体測定値が、全試薬中央値に対して全て 80%～120%の範囲内に収まる試薬は 14 試薬で、参加試薬数の 61%にしか満たない。これが臨床現場におけるフェリチン測定値のばらつきの実状である。

一方、これら多くの試薬において、WHO 標準品や精製抗原の測定値と臨床検体の測定値の挙動は類似していることから、各社共通の標準品を使用し、キャリブレーターの値付けを行うことでの校正効果は期待できるが、試薬によっては、校正前後で大幅な測定値変動が生じることになる点や、共通の標準品の素材として使用すべき物質の選択、その濃度決定法などの課題が生じることも報告している。

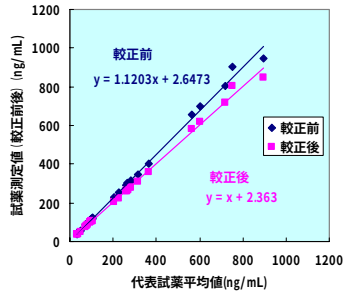
フェリチンの公的標準品としては、今回使用した WHO 標準品が唯一存在するが、この標準品はリコンビナント抗原を使用しており、校正効果として精製抗原の方が大きく、ヒト由来標品を使用したほうがより高い収束性が得られることが示唆されている。今回の追加検証として、臨床検体による校正を試みたが、その効果は、精製抗原と同程度であり、校正後の試薬間差は 1.3 倍程度にまで是正されることが示唆された。

また、校正に際し、代表的な試薬の選出を行ったが、将来的に標準化を行う場合、ヒト由来標品を使用するのであれば、その濃度決定を行う必要がある。その際には、これら代表試薬での測定値を採用するのも一案であると考える。

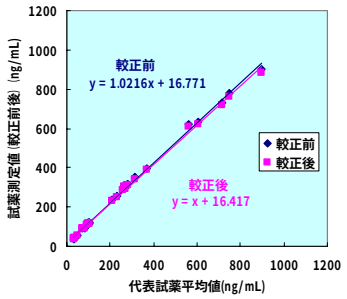
添付資料１．各試薬の較正前後での臨床検体測定値相関図



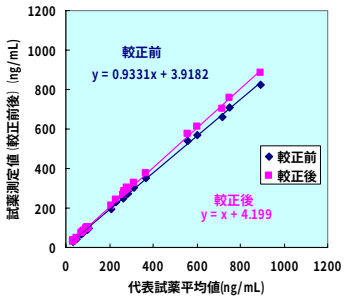
試薬１３



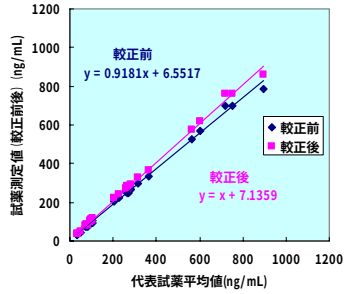
試薬１４



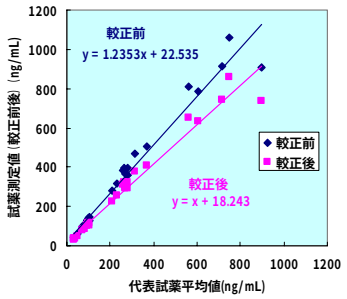
試薬１５



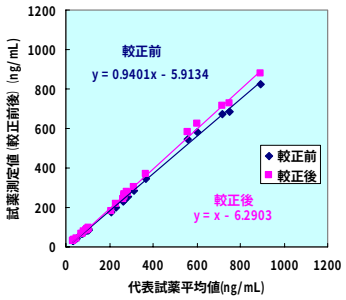
試薬１６



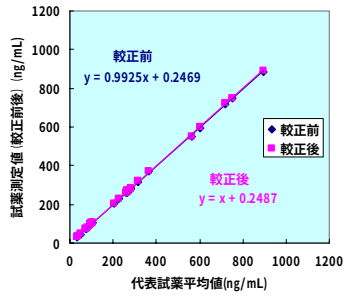
試薬１７



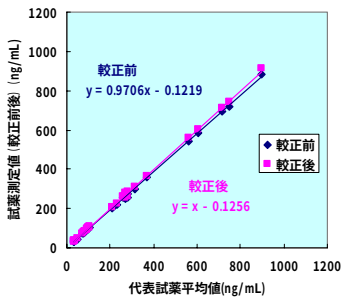
試薬１８



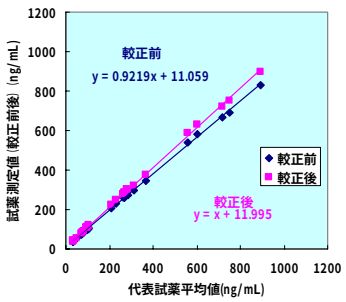
試薬１９



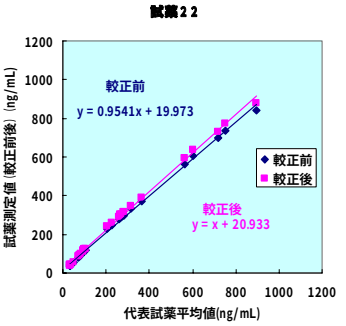
試薬２０



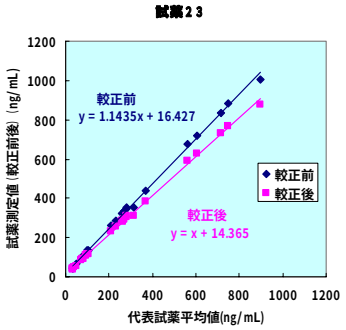
試薬２１



試薬２２



試薬２３



JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC 9

ﾌｪﾘﾁﾝ共同実験　：　試料作製プロトコール　　2006.10.16 富士レビオ　柄澤作成

【1．ベースとなる血清マトリックスの調製】

BioSpacific社製 Ferritin freeSerum (Code P81000057, Lot P4517) をそのまま用いる。

【2．ベースとなるBufferマトリックスの調製】

試　　薬　：　**Sigma社製BSA (A7030)**
ﾄﾘｽ (ﾋﾄﾞﾛｷｼﾒﾁﾙ) ｱﾐﾉﾒﾀﾝ (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)
塩化ﾅﾄﾘｳﾑ (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)
塩酸 (特級ｸﾞﾚｰﾄﾞを使用する。ﾒｰｶｰの指定は行わない。)

組　　成　：50mMﾄﾘｽ塩酸緩衝液、150mM NaCl、**1.0%** BSA、pH7.4

作 製 量　：**1L**

調 製 方 法　：1）Tris　6.057gを精製水**0.8L**に溶解する。
2）**塩化ﾅﾄﾘｳﾑ**　8.766gを溶解する。
3）**塩酸を適量添加して、pHを7.3**に調整する。
4）液の回転を停止し、BSA　**10**gを液面に乗せて溶解する。
5）溶液を**0.95L**にﾒｽｱｯﾌﾟする。
6）**塩酸を適量添加して、pHを7.4**に調整する。
7）溶液を1Lにﾒｽｱｯﾌﾟする。
8）pHを確認する (7.4±0.1)。

【3．NIBSC標品の溶解】

本品は凍結乾燥品である。添付の説明書に従い、**1.0mLの精製水で溶解させる**。溶解後の濃度は、**6.3μg/mL**となる。
血清ﾏﾄﾘｯｸｽ検討用及びBufferﾏﾄﾘｯｸｽ検討用に、それぞれ3本づつ溶解する。

【4．NIBSC標品　血清マトリックス希釈系列の調製】

調 整 濃 度 域　：0ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、200ng/mL、500ng/mL
作 製 量　：・各社配布分　：　各ポイント**0．5mL×26ヶ**
・予備 (保管) 分　：　各ポイント**0．5mL×9ヶ**
→輸送時のトラブル対応用とする。

使用する希釈液　：BioSpacific社製 Ferritin freeSerum

調 製 方 法　：下表の通り。なお、希釈には重量希釈法を用いる。**1段階上の濃度を希釈する。**

調 製 量　：0.5mL/本で35本分、バルク保存分を含め**各ポイント21mL**を調製。

ｻﾝﾌﾟﾙ名 濃度	NIBSC溶解液 6.3 ug/mL	F-5 500 ng/mL	F-4 200 ng/mL	F-3 100 ng/mL	F-2 50 ng/mL	F-1 0 ng/mL
原液 (g)	-	2.83	14.70	15.75	10.50	-
希釈液 (g)	-	32.87	22.05	15.75	10.50	17.50
仕上がり量 (g)	-	35.70	36.75	31.50	21.00	17.50
次濃度作製分 (g)	2.83	14.70	15.75	10.50	-	-
分注使用量 (g)	-	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
ﾊﾞﾙｸ保管量 (g)	-	3.50	3.50	3.50	3.50	-

＊) 小分け保存した各ポイントの余り溶液は、共同実験終了時までにバルク状態で凍結保管しておく。

注 意 事 項 ①　：表示濃度は実際の希釈倍数に基づいて算出する。従って、予定濃度と差が生まれる場合がある。

注 意 事 項 ②　：今回の検討では血清系とBuffer系のマトリックス間差を等しく評価する必要がある。各ﾎﾟｲﾝﾄを作製する際には、
血清系とBuffer系で希釈倍数がなるべく近くなるようにする。

保 存 ・ 配 布　：凍結保存容器に0.5mLづつ分注してー30℃以下で凍結後、各社へ配布する。保存容器の選定は担当業者へ一任する。

【5．NIBSC標品 Bufferマトリックス希釈系列の調整】

希釈液を「50mMﾄﾘｽ塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4」へ変更し、【4．】と同様に作製する。
ｻﾝﾌﾟﾙ名には、F-6～F-10を割り当てる。

【6．Biospacific社抗原　血清マトリックス希釈系列の調整】

調 整 濃 度 域 ：0ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、200ng/mL、500ng/mL
作　製　量　：　・各社配布分 ： 各ポイント**0．5mL×26ヶ**
・予備（保管）分 ： 各ポイント**0．5mL×9ヶ**
→輸送時のトラブル対応用とする。
使用する希釈液 ：BioSpacific社製 Ferritin freeSerum
使用する抗原 ：Biospacific社製 Ferritin (Code J81810190, Lot. J4373)
→4.62mg/mL（表示濃度）を希釈して上記濃度に調製する。
調 製 方 法 ：下表の通り。なお、希釈には重量希釈法を用いる。**1段階上の濃度を希釈する。**
調　製　量 ：0.5mL/本で35本分、バルク保存分を含め**各ポイント40mL**を調製。

原液が調製濃度に対して10000倍近いので、一時希釈、二次希釈品を用意して、二次希釈品より目的濃度を調製する。

ｻﾝﾌﾟﾙ名	原液	一次希釈品	二次希釈品	F-15	F-14	F-13	F-12	F-11
	4.62	200	10	500	200	100	50	0
濃度	mg/mL	ug/mL	ug/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL	ng/mL
原液（g）	ー	0.80	1.00	3.40	28.00	30.00	20.00	-
希釈液（g）	-	17.68	19.00	64.60	42.00	30.00	20.00	17.50
仕上がり量（g）	-	18.48	20.00	68.00	70.00	60.00	40.00	17.50
次濃度作製分（g）	0.80	1.00	3.40	28.00	30.00	20.00	-	-
分注使用量（g）	-	-	-	17.50	17.50	17.50	17.50	17.50
ﾊﾞﾙｸ保管量（g）	残りを保管	17.48	16.60	22.50	22.50	22.50	22.50	-

＊）小分け保存した各ポイントの余り溶液は、共同実験終了時までにバルク状態で凍結保管しておく。

注 意 事 項 ①　：表示濃度は実際の希釈倍数に基づいて算出する。従って、予定濃度と差が生まれる場合がある。

注 意 事 項 ②　：今回の検討では血清系とBuffer系のマトリックス間差を等しく評価する必要がある。各ﾎﾟｲﾝﾄを作製する際には、血清系とBuffer系で希釈倍数がなるべく近くなるようにする。

注 意 事 項 ③　：表示濃度は暫定値とし、各社測定結果を基に値付けする。

保 存 ・ 配 布　：凍結保存容器に0.5mLづつ分注してー30℃以下で凍結後、各社へ配布する。保存容器の選定は担当業者へ一任する。

【7．Biospacific社抗原　Bufferマトリックス希釈系列の調整】

希釈液を「50mMトリス塩酸緩衝液、150mM NaCl、1.0% BSA、pH7.4」へ変更し、【6．】と同様に作製する。
ｻﾝﾌﾟﾙ名には、F-16～F-20を割り当てる。

【8．備考】

・必要な凍結保存容器数 ： 700本 （35本/1希釈系列 × 5系列 × 4種類）

添付資料１－２　臨床検体作製プロトコル

JCCLS標準化基本検討委員会　柱1ワーキンググループC9
フェリチン共同実験　：　プール血清作製プロトコル

2007.1.18 富士レビオ　柄澤作成

【1．材料】
2007.1.17入手　癌センター検体　下表のようにグループ分けを実施

ｸﾞﾙｰﾌﾟ①	0～50 ng/mL	25本	
ｸﾞﾙｰﾌﾟ②	50～100 ng/mL	50本	
ｸﾞﾙｰﾌﾟ③	100～500 ng/mL	50本	
ｸﾞﾙｰﾌﾟ④	500～1000 ng/mL	25本	それぞれ 3.5～4 mL 含有

【2．調整量】

設定濃度域	調整本数	1本あたり	検体No.
0～50 ng/mL	5本	17mL以上	F-21～25
50～100 ng/mL	10本	17mL以上	F-26～35
100～500 ng/mL	10本	17mL以上	F-36～45
500～1000 ng/mL	5本	17mL以上	F-46～50

1本あたり本数の内訳：
13mL　：　各社発送分　(0.5mL x 26試薬)
4mL+α　：　予備保管分　(0.5mL x 8本 +α)

【3．プール血清の調整】

3－1．0～50ng/mL濃度域プール血清 (5本)
・「グループ①」の癌センター検体より、任意に5本を選択し、混合する。→「F-21」とする。
・同様に、残りの検体から5本ずつを任意に選択し、混合する。→「F-22～F-25」とする。

3－2．50～100ng/mL濃度域プール血清 (10本)
・「グループ②」の癌センター検体より、任意に5本を選択し、混合する。→「F-26」とする。
・同様に、残りの検体から5本ずつを任意に選択し、混合する。→「F-27～F-35」とする。

3－3．100～500ng/mL濃度域プール血清 (10本)
・「グループ③」の癌センター検体より、任意に5本を選択し、混合する。→「F-36」とする。
・同様に、残りの検体から5本ずつを任意に選択し、混合する。→「F-37～F-45」とする。

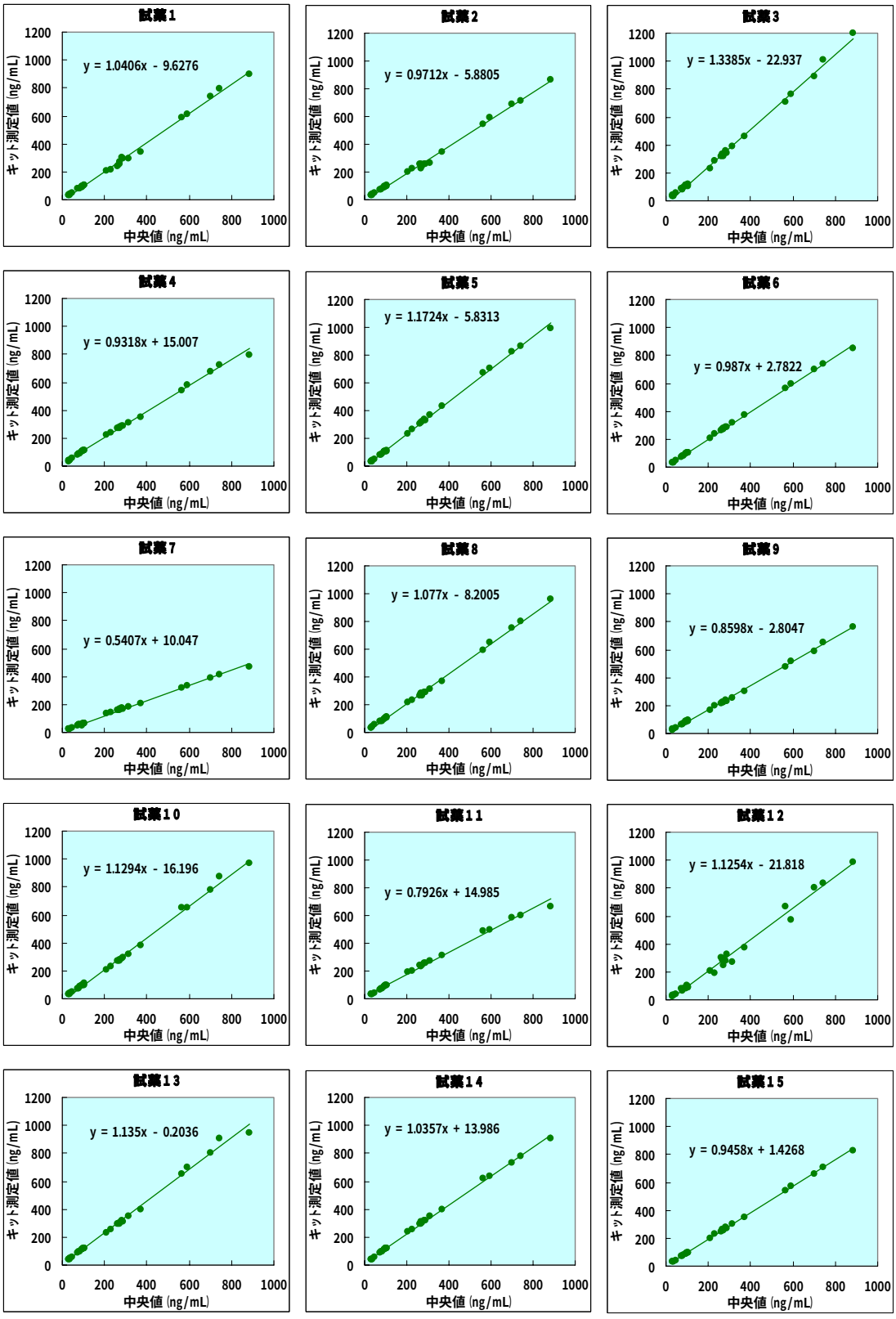
3－4．500～1000ng/mL濃度域プール血清 (5本)
・「グループ④」の癌センター検体より、任意に5本を選択し、混合する。→「F-46」とする。
・同様に、残りの検体から5本ずつを任意に選択し、混合する。→「F-47～F-50」とする。

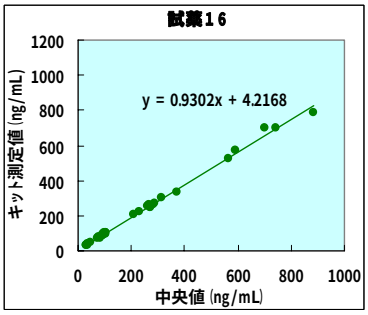
【4．分注前準備】
各々のプール血清は遠心分離を行い、沈殿物および浮遊物を除去する。

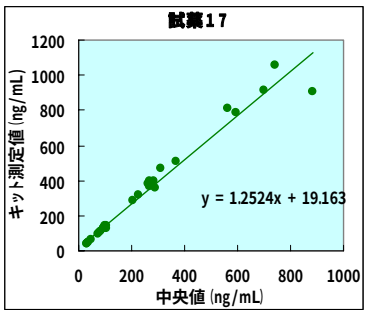
【5．分注、保管】
それぞれのプール血清は、0.5mLずつ分注し、各社への発送まで-30℃以下で凍結保存する。
分注容器には、検体No.(F-21～50)を明記したラベルを貼付する。
1本あたりの分注本数は34本以上とするが、検体量が多い場合の残量は、バルク保存でもよい。
予備分注分に関しては、調整担当メーカーで保管し、輸送トラブル等で参加メーカーより追加供与依頼があ
場合の対応分とし、本WGの活動が終了するまで保管する。

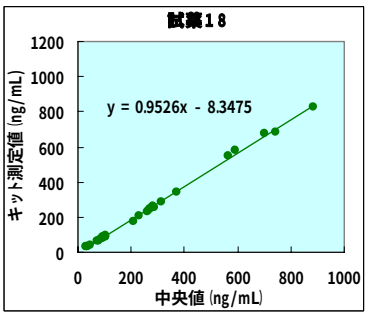
【6．備考】
必要な分注容器本数：　1020本 (+α)　・・・30本 x 34分注 +α

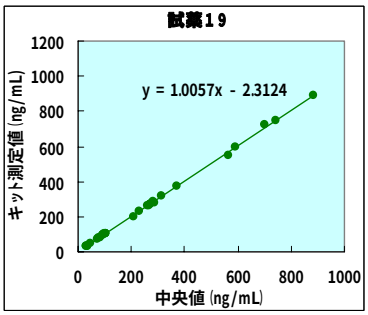
添付資料２．各試薬の臨床検体測定値相関図

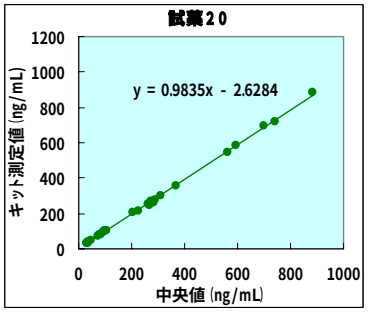


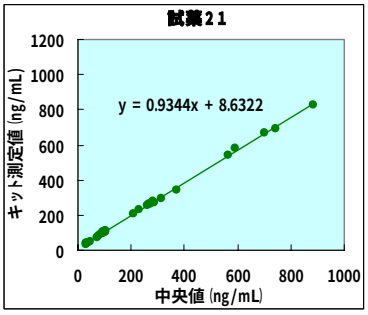

試薬16
y = 0.9302x + 4.2168
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

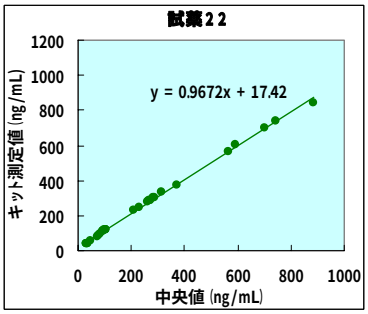

試薬17
y = 1.2524x + 19.163
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

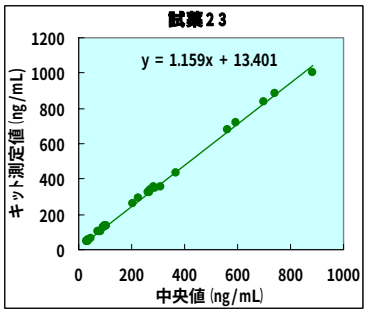

試薬18
y = 0.9526x - 8.3475
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200


試薬19
y = 1.0057x - 2.3124
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

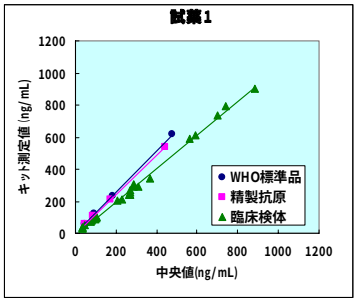

試薬20
y = 0.9835x - 2.6284
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

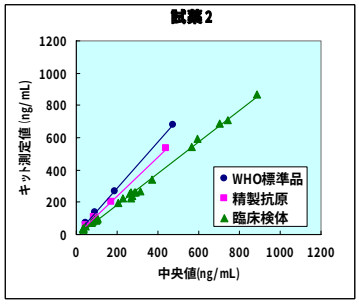

試薬21
y = 0.9344x + 8.6322
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

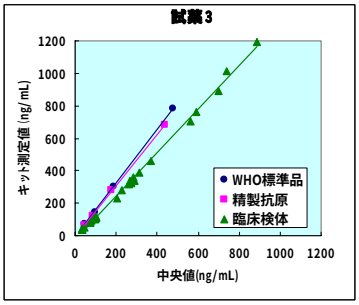

試薬22
y = 0.9672x + 17.42
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

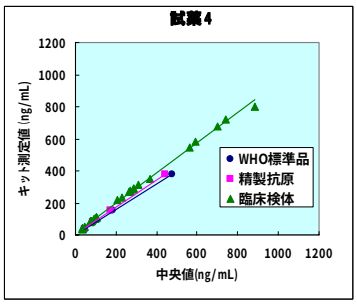

試薬23
y = 1.159x + 13.401
キット測定値 (ng/mL)
中央値 (ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

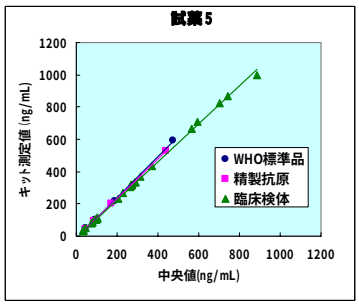
添付資料３．各試薬の標準試料、臨床検体測定値相関図

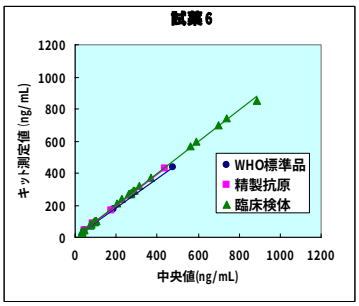


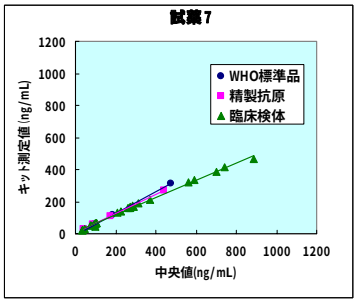


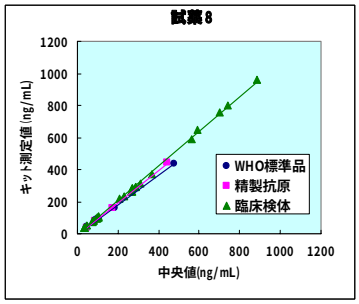


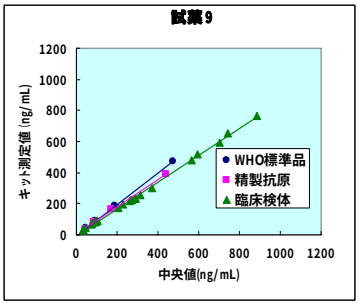


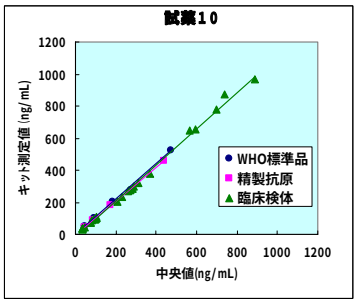


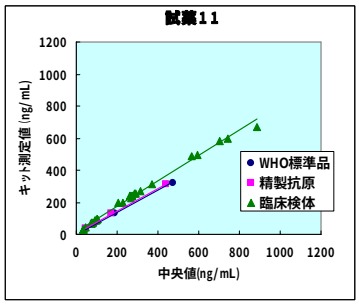


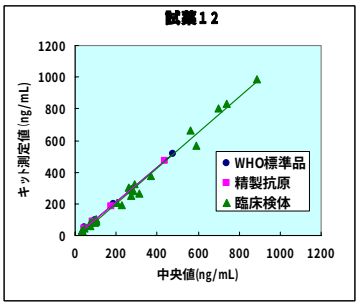


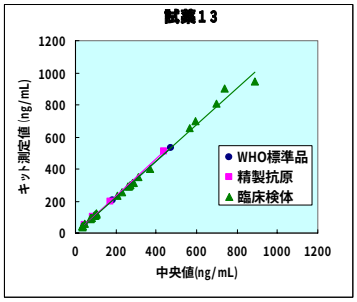


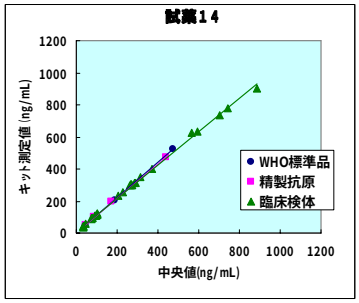


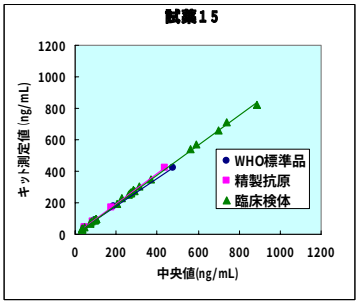




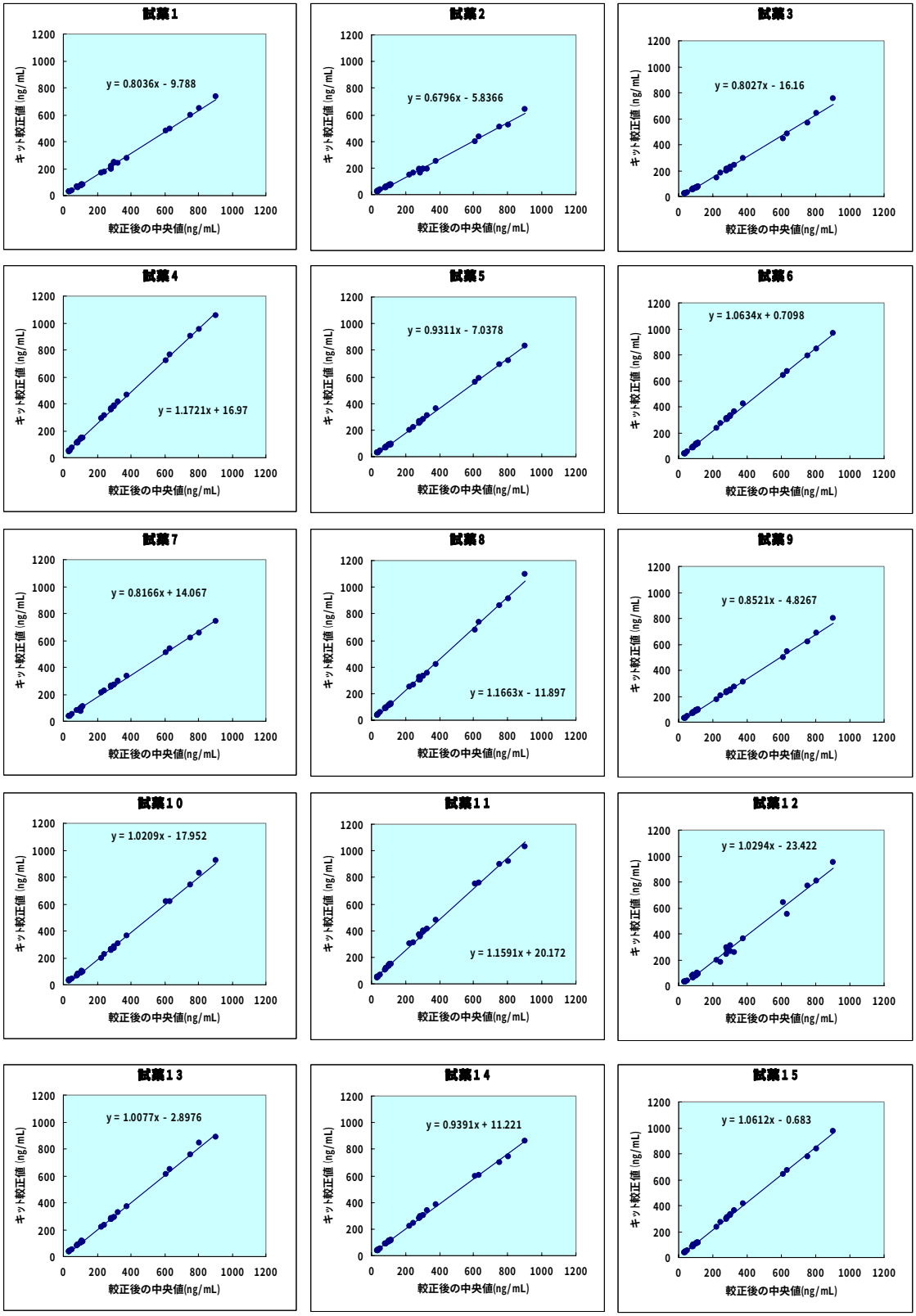


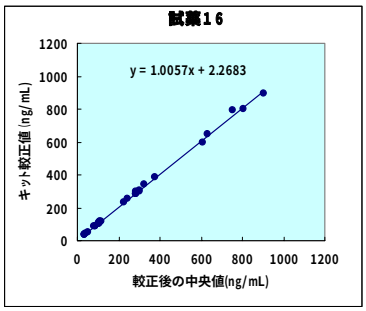


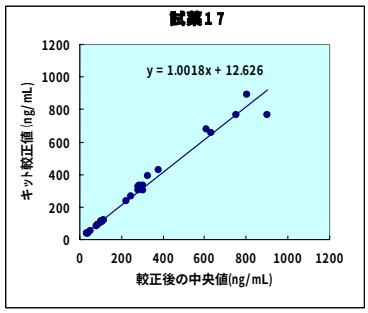


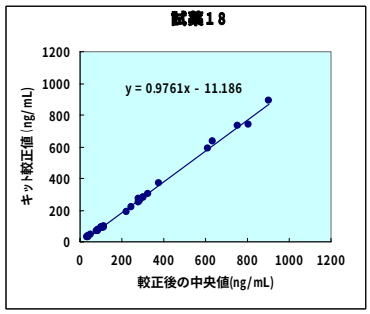


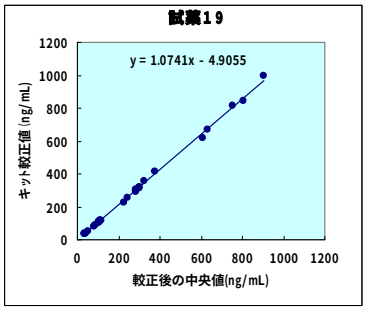
添付資料４．各試薬の WHO 標準品による校正後の測定値相関図

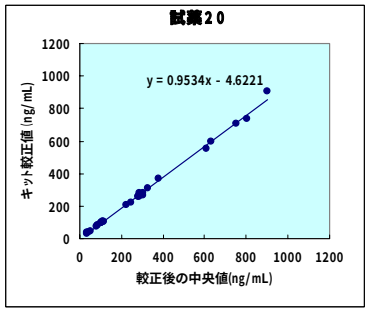


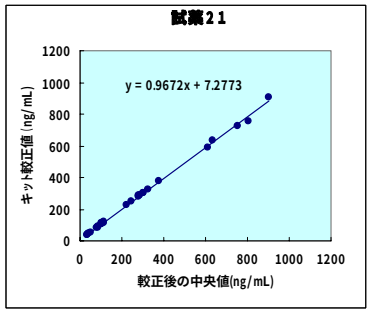

試薬16
y = 1.0057x + 2.2683
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

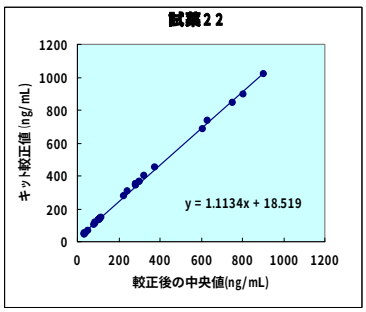

試薬17
y = 1.0018x + 12.626
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

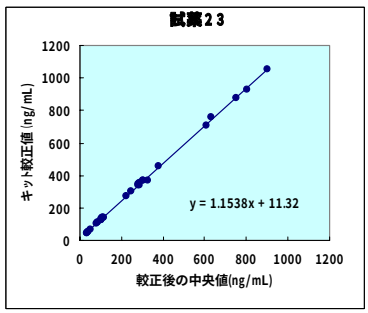

試薬18
y = 0.9761x - 11.186
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200


試薬19
y = 1.0741x - 4.9055
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

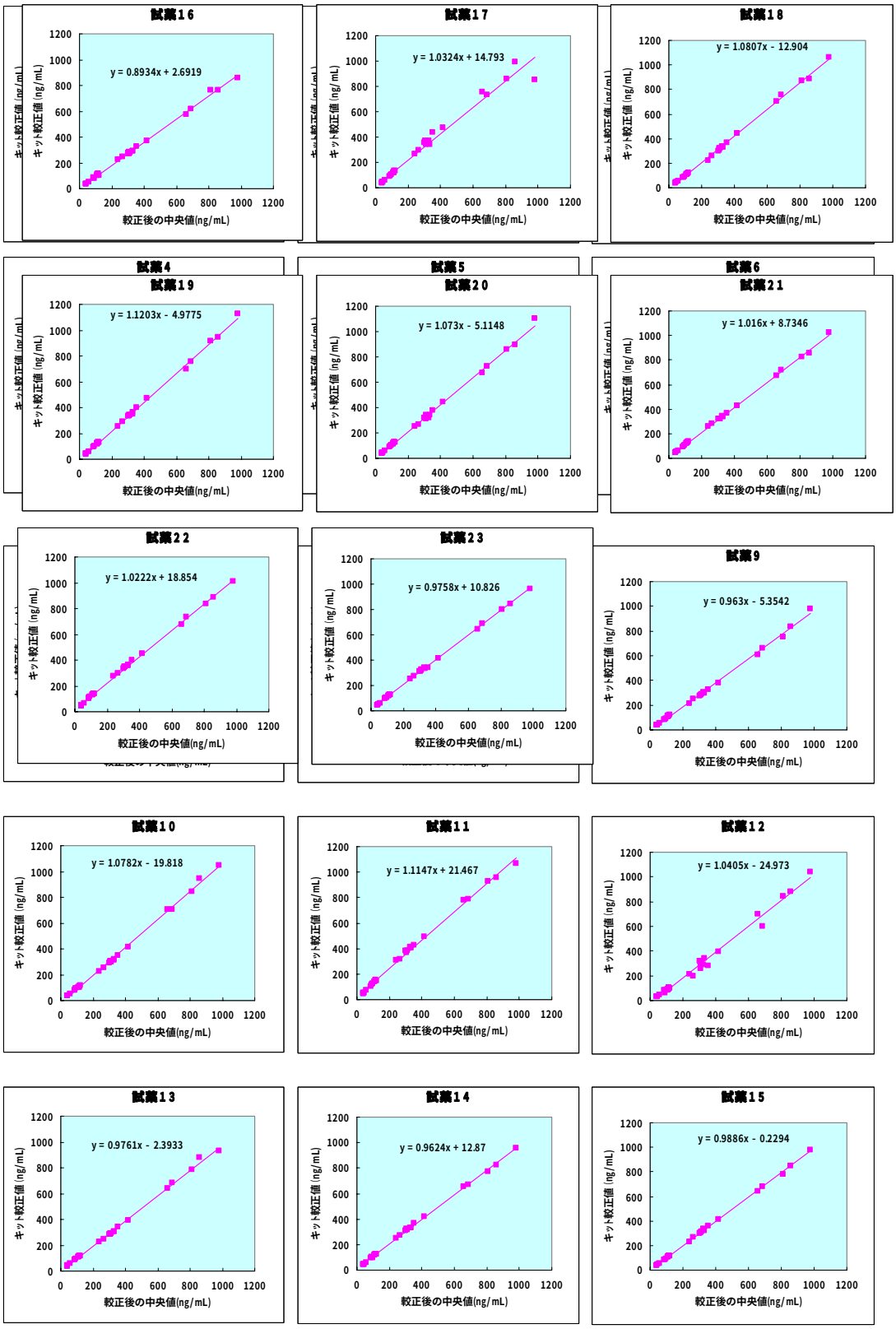

試薬20
y = 0.9534x - 4.6221
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

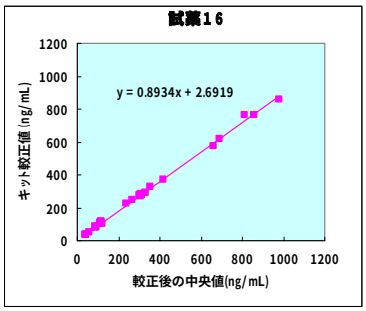

試薬21
y = 0.9672x + 7.2773
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

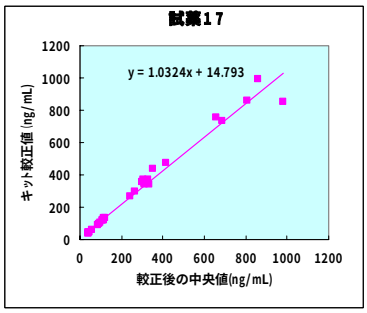

試薬22
y = 1.1134x + 18.519
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

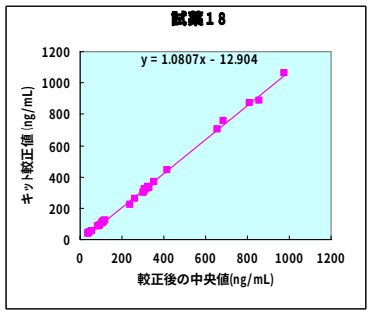

試薬23
y = 1.1538x + 11.32
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)
0
200
400
600
800
1000
1200

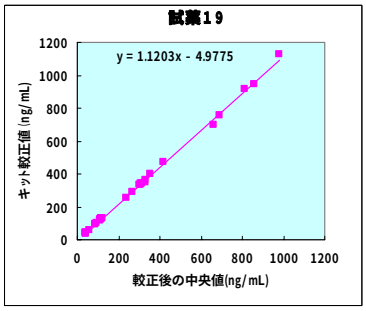
添付資料５．各試薬の精製抗原による校正後の測定値相関図

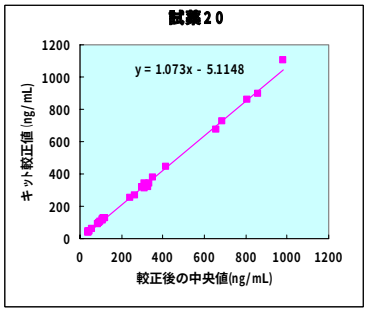


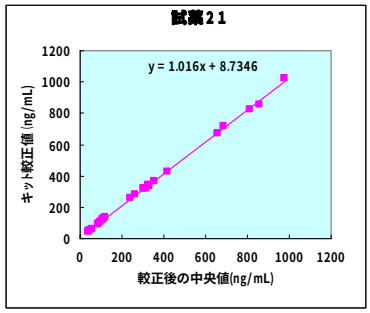

試薬16
y = 0.8934x + 2.6919
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)

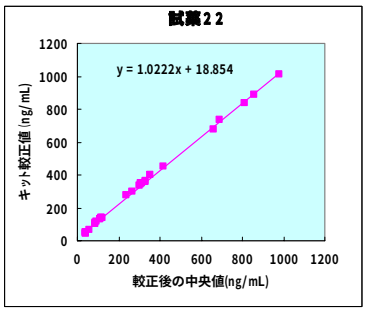

試薬17
y = 1.0324x + 14.793
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)

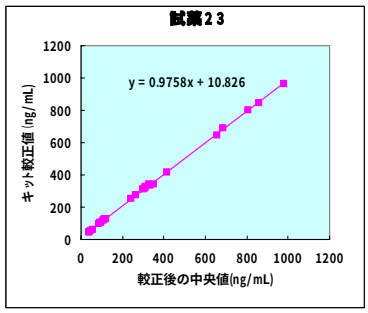

試薬18
y = 1.0807x - 12.904
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)


試薬19
y = 1.1203x - 4.9775
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)


試薬20
y = 1.073x - 5.1148
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)


試薬21
y = 1.016x + 8.7346
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)


試薬22
y = 1.0222x + 18.854
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)


試薬23
y = 0.9758x + 10.826
キット較正値 (ng/mL)
較正後の中央値(ng/mL)

２－４－２－１９　CA19-9

要旨

１）参加企業にアンケートを実施し、試薬間の相関性の文献調査を行った。

２）試薬間の傾きは、0.65～2.08 で、最大最小差は 3.2 倍と開きが見られた。現状では試薬間差は大きいものと思われる。

１．目的

JCCLS 柱 1 項目群 WG により実行計画が示され、腫瘍ﾏｰｶｰ群は調査研究項目群として C9WG に分類される。CA19-9 は C9WG 調査研究対象項目（8 項目）中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 4（基準②-B)」に属する。

本 WG（CA19-9）では、測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。その手段として、今年度はアンケート調査による測定値間差の検証を実施した。

２．委員会の構成

本 WG（CA19-9）の構成メンバーを示す。但し、WG 発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18 年度報告書作成時のメンバーとした（敬称略)。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
実行計画作成者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	前田　英征	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合　2005 年 11 月 14 日（月）　13:00～16:30　（日本臨床検査薬協会会議室）
第２回会合　2006 年 3 月 9 日（木）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第３回会合　2006 年 6 月 12 日（月）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第４回会合　2006 年 7 月 7 日（金）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第５回会合　2006 年 10 月 30 日（月）　13:00～14:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合　2007 年 2 月 23 日（金）　14:00～17:00　（日本臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

本項目の本年度の活動方針として、アンケート調査により試薬間の相関性を評価し、標準化の判断を実施することになった。そこで参加企業から、各試薬添付文書、各社社内データ、論文等の文献資料より、試薬間相関性データを収集した。

結果、9 社より 11 社 17 試薬の相関性データを回収した（下表）。個々のデータの傾きは 0.65～2.08 で、最大値・最小値には 3.2 倍の開きがあった。相関係数も 0.95 未満が 10 データ、0.9 未満が 5 データあり、各データの中でも乖離検体が存在する場合が多いことも示唆された。切片も－20.59～22.9 であり、カットオフ（37U/mL）に対して高い変動値であった。対照としてもっとも使用されている、「E 社-⑧」試薬との回帰式データ（8、10、12、15、16、17、20）だけでも、傾きの幅は 0.79～1.28 で最大最小差は 1.6 倍あり、試薬間差はきわめて大きいと思われる。

表１．11 社 17 試薬の CA19-9 相関性データ

	ﾃﾞｰﾀ提供企業	y軸試薬	x軸試薬	n	傾き	切片	相関係数
1	A社	A社-①	A社-②	435	1.57	-5.76	0.90
2	A社	A社-①	A社-③	317	1.48	-4.16	0.94
3	A社	A社-①	J社-⑮	256	2.08	-20.59	0.98
4	A社	A社-②	A社-③	282	1.154	1.034	0.9830
5	A社	A社-②	A社-④	283	0.95	-1.731	0.9832
6	A社	A社-②	A社-④	244	1.11	2.41	0.935
7	A社	A社-②	I社-⑭	173	0.653	7.843	0.874
8	A社	A社-②	E社-⑧	72	1.28	22.9	0.501
9	B社	B社-⑤	I社-⑭	79	0.95	-5.74	0.988
10	B社	B社-⑤	E社-⑧	292	0.991	-3.01	0.931
11	C社	C社-⑥	K社-⑯	82	1.013	2.4	0.983
12	C社	C社-⑥	E社-⑧	50	0.916	1.7	0.967
13	D社	D社-⑦	A社-③	48	0.932	10.39	0.981
14	E社	E社-⑧	A社-③	105	1.169	0.074	0.996
15	F社	F社-⑨	E社-⑧	144	0.92	9.52	0.817
16	G社	G社-⑩	E社-⑧	115	0.79	-0.2	0.925
17	H社	H社-⑪	E社-⑧	99	0.89	11	0.749
18	H社	H社-⑪	I社-⑰	72	0.883	4.9	0.89
19	H社	H社-⑪	I社-⑰	159	0.719	1.9	0.903
20	I社	I社-⑫	E社-⑧	93	0.873	15.84	0.904
21	I社	I社-⑬	I社-⑫		1.03	0.80	0.999

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

CA19-9 には公的標準品と呼べるべき標準物質は存在しない。各社が独自のトレーサビリティ体系により値付けを行っているのが実状である。

４－３　キット差の要因について

４－１に述べたように、試薬間差が大きい。2005 年実施の「第 27 回イムノアッセイ検査　全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」においても、18 試薬間の CV は試料 1（基準内濃度）で 31.0%、試料 2（軽度の高値）で 78.3%、試料 2 の最大最小差は 5.9 倍と報告されており（表２）、試薬間のバラツキは臨床上周知のことでもあり、その定義からさかのぼるべきという意見もある。

表２．CA19-9 全国コントロールサーベイ測定値
（第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）
成績報告書を改変し作表）

	平均値 (U/mL)	
試薬	試料1	試料2
I	41.77	296.48
	40.93	299.61
II	29.95	142.63
	29.62	142.18
III	24.62	82.95
IV	19.16	54.06
	19.26	
V	25.10	59.28
VI	20.58	58.23
VII	20.80	73.69
		63.22
VIII	18.20	53.29
IX	21.98	59.00
XI	33.61	95.99
XI	18.15	53.95
XII	39.65	110.84
XIII	23.22	66.52
XIV	18.45	49.98
XV	24.75	84.40
XVI	23.50	78.25
XVII	14.40	53.40
XVIII	19.10	66.37
最小値	14.40	49.98
最大値	41.77	299.61
最大値/最小値	2.90	5.99

すなわち、CA19-9 抗原は、セントコア社により開発された、ヒト結腸・直腸癌培養株 SW1116 を用いて作成されたモノクローナル抗体 NS19-9 抗体によって検出される抗原として当初定義されていたが、測定意義の高まり、およびモノクローナル抗体作製技術の一般化とともに、現在では NS19-9 以外の抗体を用いて CA19-9 抗原を測定する試薬も市販されている。これら使用抗体の差も試薬間差の一因であると考えられるが、一方で、同じ抗体を使用している試薬間でも相関性不良や乖離検体が見られることも知られており（１）、測定原理や各社トレーサビリティ体系、等、種々の要因が測定値差を反映しているものと思われる。さらには、精製された抗原と血中で

の存在様式が異なる（２）など、抗原分子の多様性（健常者と癌患者、糖含量、ムチンタンパク分子量）に起因した、標準品と血中 CA19-9 の反応性差も存在すると考えられる。各社標準品に使用されている抗原の様式もさまざまであると思われるので、特定の抗原を使用しての標準化も困難であることが予測される。

４－４標準化に向けた実行計画

４－１で提示した現状での試薬間差や４－３で述べたその要因から推し量ると、CA19-9 は本 WG の項目の中でも最も標準化が難しい項目である。したがって、現時点で標準化に向けての実行計画は立てられないが、現状での試薬間差をより正確に把握するためには、臨床検体を用いての試薬間差の確認をすることは臨床上意義のあることではある。

５．今後の課題

CA19-9 は試薬間差が大きく、その背景には素材の多様性が介在していることを既に述べた。共通の抗原を用いての値付けによる較正の可能性を試みる場合においても、濃度を一致するだけでは不十分であり、糖鎖のもたらす影響を考慮した条件（反応時の pH、イオン強度、反応温度、等）の合せ込みも併せて必要になる。

また、標準化には用語の定義、カットオフ、臨床意義などの概念の再検証も必要であり、臨床現場とメーカーの協力に基づく探索が必要となる。

６．結び

参加企業にアンケートを実施し、現状での試薬間差を調査したところ、回帰式の傾きは 0.65～2.08 であり、相関係数や切片不良のデータも多く、試薬間差は大きかった。試薬間差を正確に把握するためには実検体の測定値比較が望ましいが、併せて、各社のトレーサビリティ体系や素材の反応性など、多角的な検証が必要になると思われる。

７．参考資料

(1)　大川二朗、他：臨床検査 38：126-17, 1994

(2)　大倉久直：代謝 22（臨時増刊）：891-896, 1985

２－４－２－２０　CA125

要旨

１）参加企業にアンケートを実施し、試薬間の相関性の文献調査を行った。

２）試薬間の傾きは、0.83～1.43 で、特定の試薬を基軸として傾きを推定した場合においても、0.88～1.46 であり、試薬間での測定値差が大きいことが示唆された。

３）試薬間差をより正確に把握するためには、実検体、および共通の抗原試料を用いての確認が望ましい。

２．目的

JCCLS 柱１項目群 WG により実行計画が示され、腫瘍ﾏｰｶｰ群は調査研究項目群として C9WG に分類される。CA125 は C9WG 調査研究対象項目（8 項目）中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 4（基準②-B）」に属する。

本 WG（CA125）では、測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。その手段として、今年度はアンケート調査による測定値間差の検証を実施した。

２．委員会の構成

本 WG（CA125）の構成メンバーを示す。但し、WG 発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18 年度報告書作成時のメンバーとした（敬称略）。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
実行計画作成者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	前田　英征	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合　2005 年 11 月 14 日（月）　13:00～16:30　（日本臨床検査薬協会会議室）
第２回会合　2006 年 3 月 9 日（木）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第３回会合　2006 年 6 月 12 日（月）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第４回会合　2006 年 7 月 7 日（金）　13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第５回会合　2006 年 10 月 30 日（月）　13:00～14:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合　2007 年 2 月 23 日（金）　14:00～17:00　（日本臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

本項目の本年度の活動方針として、アンケート調査により試薬間の相関性を評価し、標準化の判断を実施することになった。そこで参加企業から、各試薬添付文書、各社社内データ、論文等の文献資料より、試薬間相関性データを収集した。

結果、8 社より 11 社 14 試薬の相関性データを回収した（表１）。個々のデータの傾きは 0.83～1.43 で、最大値・最小値には 1.7 倍の開きがあった。

表１．11 社 14 試薬の CA125 相関性データ

	ﾃﾞｰﾀ提供企業	y軸試薬	x軸試薬	n	傾き	切片	相関係数
1	A社	A社-①	A社-②	98	1.10	9.29	0.990
2	A社	A社-①	A社-②	122	1.26	2.69	0.970
3	A社	A社-①	J社-⑬	98	1.04	4.43	0.978
4	A社	A社-①	K社-⑭	98	1.25	1.39	0.990
5	A社	A社-①	K社-⑭	115	1.35	-1.62	1.000
6	A社	A社-①	K社-⑭	58	1.27	-0.19	0.990
7	A社	A社-①	G社-⑨	98	1.24	-10.1	0.990
8	A社	A社-①	G社-⑨	70	1.29	-27.5	0.999
9	A社	A社-①	A社-②	90	1.053	1.345	0.996
10	A社	A社-②	H社-⑪	102	1.08	1.0	0.974
11	A社	A社-②	A社-③	200	0.90	6.22	0.970
12	A社	A社-②	K社-⑭	200	0.92	4.28	0.880
13	A社	A社-③	K社-⑭	289	0.91	5.77	0.910
14	A社	A社-③	K社-⑭	289	0.83	1.25	0.970
15	B社	B社-④	H社-⑪	100	0.87	-4.79	0.993
16	B社	B社-④	G社-⑨	211	0.970	-3.16	0.991
17	C社	C社-⑤	E社-⑦	50	0.98	0.34	0.988
18	D社	D社-⑥	E社-⑦	48	0.935	-8.97	0.984
19	E社	G社-⑨	E社-⑦	131	0.88	-0.22	0.96
20	F社	F社-⑧	E社-⑦	120	0.98	7.4	0.971
21	G社	G社-⑨	E社-⑦	72	1.43	-3.1	0.973
22	H社	I社-⑩	H社-⑪	100	1.23	-9.71	0.89
23	H社	H社-⑪	E社-⑦	148	1.07	10.39	0.973
24	H社	H社-⑫	H社-⑪		0.96	0.08	0.999

続いて、上記データのうち、最も対照としての使用頻度が高い、「E 社-⑦」の試薬を基軸とし、全試薬について「E 社-⑦」試薬との相関性の評価を試みた。その方法としては、

１.「E 社-⑦」と直接比較したデータ（17、18、19、20、21、23）のある試薬については、その傾きの数値を「E 社-⑦」との相関性データとする。

２.「E 社-⑦」と直接比較のない試薬については、対照としている別の試薬と「E 社-⑦」の試薬の回帰式の傾きより、間接的に「E 社-⑦」との相関性を推定した。該当するデータが複数ある場合には、その平均値を採用した。

（例 : A 社-②の H 社-⑪に対する傾きは 1.08 であり（データ 10）、H 社-⑪と E 社-⑦の傾きが 1.07 である（データ 23）ことから、A 社-②の E 社-⑦に対する傾きは、1.08 x 1.07 = 1.16 と推定した。）

その結果を下表に示した。10 社 13 試薬の「E 社-⑦」試薬との傾きは 0.88～1.46（最大最小差は 1.7 倍）であった。

表２．各試薬の E 社-⑦試薬との傾き推定値

試薬名	E社-⑦との傾き
A社-①	1.22～1.46
A社-②	1.16
A社-③	1.28
B社-④	0.93
C社-⑤	0.98
D社-⑥	0.935
F社-⑧	0.98
G社-⑨	0.88～1.43
I社-⑩	1.32
H社-⑪	1.07
H社-⑫	1.03
J社-⑬	1.26
K社-⑭	1.26～1.41

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

CA125 には公的標準品と呼べるべき標準物質は存在しない。各社が独自のトレーサビリティ体系により値付けを行っているのが実状である。

４－３　キット差の要因について

４－１に記載したように、各社より提供された試薬間の相関性は傾き 0.83～1.43 であり、特定の 1 試薬を基軸として間接的な換算を含む解析を実施したところ、基軸試薬に対する傾きは 0.88～1.46 となり、いずれの調査においても、最大最小差には 1.7 倍の開きがあった。

2005 年実施の「第 27 回イムノアッセイ検査　全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」によると、14 試薬の試薬間 CV は、試料 1（基準値内濃度）で 14.9%、試料 2（高値）で 17.3% であり、試料 2 の最大最小差は 1.7 倍であった（表３）。

表３．CA125 全国コントロールサーベイ測定値
（第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）
成績報告書を改変し作表）

試薬	平均値 (U/mL) 試料1	試料2
I	15.61	59.69
	15.40	
II	11.68	69.70
III	14.09	
	14.27	
IV	10.68	74.21
	11.13	75.07
V	14.61	72.79
VI	14.21	52.63
VII	15.95	68.70
VIII	16.52	67.65
IX	16.20	80.39
XI	5.91	44.82
XI	13.63	68.35
XII	15.05	40.77
XIII	10.45	69.20
最小値	5.91	40.77
最大値	16.52	80.39
最大値/最小値	2.80	1.97

今回の調査結果からは、サーベイの結果と同様、試薬間差が大きく、測定値の収束はなされていないことが示唆された。試薬間差の原因としては、測定原理、抗体の反応性、トレーサビリティ体系等が挙げられるが、その原因は文献調査からでは特定できない。サーベイでは人工的に調製された凍結乾燥試料を用いているが、より正確に試薬間のバラツキを確認するためには、実検体を用いての測定値を比較すべきである。

４－４　標準化に向けた実行計画

４－３に記載した通り、現時点では、試薬間で測定値は収束していないことが予測されるが、より正確に現状を把握するためには、各試薬で一斉に同一試料を測定し確認することが望ましい。この場合、臨床現場での測定値差を確認する点においては、臨床検体（健常人血清、卵巣癌患者血清）の測定値比較が必須であるが、各社試薬の標準品の値付けによる測定値差の有無の確認（測定値較正による標準化の可能性の判断）のために、別途共通の標準サンプルを用意することが望ましい。

５．今後の課題

今年度の文献調査からは、試薬間で測定値は収束していないことが示唆されたが、正確な試薬間差を確認するための実検体の測定や、校正効果確認のための共通標準試料の測定を行うことが必要となる。CA125 には公的な標準品が存在しないため、共通標準試料を調製する場合にはその候補品の選定、マトリックスの選択、根拠となる濃度設定などの課題が生じる。また、これら作業により標準化の可否判断を考察する一助として、各試薬標準品のトレーサビリティ体系の確認、各社が使用している抗体の情報提供等、参加企業の協力も必要である。

６．結び

参加企業にアンケートを実施し、現状での試薬間差を調査したところ、試薬間での相関は 0.83～1.43 であり、1 試薬を対照とした傾きを解析したところ、推定値は 0.88～1.46 となり、現状では試薬間での測定値差が大きいことが予測される結果となった。正確に試薬間差を把握するためには、実検体を用いての一斉確認や、各試薬標準品のトレーサビリティ体系の調査が必要となる。

２－４－２－２１　CA15-3

要旨

１）参加企業にアンケートを実施し、試薬間の相関性の文献調査を行った。

２）試薬間の傾きは、相関係数・切片が不良なデータを除くと 0.9～1.1 の範囲内で、特定の試薬を基軸として傾きを推定した場合においても、0.79～0.97 であり、試薬間差は比較的収束していることが示唆された。

３）試薬間差をより正確に把握し、標準化の可能性を追求するためには、実検体を用いての確認が望ましい。

３．目的

JCCLS 柱１項目群 WG により実行計画が示され、腫瘍ﾏｰｶｰ群は調査研究項目群として C9WG に分類される。CA15-3 は C9WG 調査研究対象項目（8 項目）中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 4（基準②-B）」に属する。

本 WG（CA15-3）では、測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。その手段として、今年度はアンケート調査による測定値間差の検証を実施した。

２．委員会の構成

本 WG（CA15-3）の構成メンバーを示す。但し、WG 発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18 年度報告書作成時のメンバーとした（敬称略）。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
実行計画作成者	柄澤　英治	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	保田　徹	ｵｰｿ・ｸﾘﾆｶﾙ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
技術担当者	前田　英征	株式会社ﾃｲｴﾌﾋﾞｰ
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合	2005 年 11 月 14 日（月）	13:00～16:30	（日本臨床検査薬協会会議室）
第２回会合	2006 年 3 月 9 日（木）	13:00～15:00	（日本臨床検査薬協会会議室）
第３回会合	2006 年 6 月 12 日（月）	13:00～15:00	（日本臨床検査薬協会会議室）
第４回会合	2006 年 7 月 7 日（金）	13:00～15:00	（日本臨床検査薬協会会議室）
第５回会合	2006 年 10 月 30 日（月）	13:00～14:00	（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合	2007 年 2 月 23 日（金）	14:00～17:00	（日本臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

本項目の本年度の活動方針として、アンケート調査により試薬間の相関性を評価し、標準化の判断を実施することになった。そこで参加企業から、各試薬添付文書、各社社内データ、論文等の文献資料より、試薬間相関性データを収集した。

結果、6 社より 8 社 11 試薬の相関性データを回収した（表１）。傾きはデータ 5、8 を除く 16 例で、0.9～1.1 の範囲であり、良好な相関性結果が得られた。範囲外となった 2 つのデータに関しては､データ 5 は相関係数が 0.81 と悪く､何らかの異常値による乖離の影響があると推察され、データ 8 については、切片が他に比べ大きく（10.7)、相関係数も 0.91 と必ずしも良好でないことから、データ 5 同様に異常値による影響があるものと思われた。

そこで、データ 5、8 については、客観的に試薬間の相関性を把握する資料としては不適当であると思われたので、これらを除く 16 データについて精査を行った。

表１．8 社 11 試薬の CA15-3 相関性データ

	ﾃﾞｰﾀ提供企業	y軸試薬	x軸試薬	n数	傾き	切片	相関係数
1	A社	A社-①	A社-③	201	0.93		0.98
2	A社	A社-①	A社-③	100	0.96		0.98
3	A社	A社-①	G社-⑥	195	0.92		0.98
4	A社	A社-①	G社-⑥	100	1.07		0.96
5	A社	A社-①	H社-⑤	100	2.07		0.81
6	A社	A社-①	E社-⑨	100	0.92		0.92
7	A社	A社-①	A社-③	58	0.9	3.41	0.994
8	A社	A社-①	E社-⑨	63	0.780	10.7	0.910
9	A社	A社-②	C社-⑦	85	0.94	-3.56	0.90
10	A社	A社-③	A社-②	612	0.96	1.21	0.988
11	B社	B社-④	C社-⑦	160	0.96	-1.59	0.951
12	B社	B社-④	F社-⑩	100	1.02	4.89	0.988
13	B社	B社-④	C社-⑦	224	0.964	0.295	0.951
14	C社	E社-⑫	C社-⑦	100	0.948	0.413	0.965
15	D社	D社-⑧	A社-③	135	1.006	0.962	0.957
16	E社	E社-⑨	C社-⑦	84	0.95	-0.3	0.991
17	F社	F社-⑩	C社-⑦	223	0.923	4.659	0.96
18	F社	F社-⑪	F社-⑩		1.05	0.5	0.999

上記データのうち、最も対照としての使用頻度が高い、「C 社-⑦」の試薬を基軸とし、全試薬について「C 社-⑦」試薬との相関性の評価を試みた。その方法としては、

１.「C 社-⑦」と直接比較したデータ（9、11、13、14、16、17）のある試薬については、その傾きの数値を「C 社-⑦」との相関性データとする。

２.「C 社-⑦」と直接比較のない試薬については、対照としている別の試薬と「C 社-⑦」の試薬の相関性の傾きより、間接的に「C 社-⑦」との相関性を推定した。該当する数値が複数ある場合には、その平均値を採用した。

（例 : A 社-③の A 社-②に対する傾きは 0.96 であり（データ 10）、A 社-②と C 社-⑦の傾きが 0.94 である（データ 9）ことから、A 社-③の C 社-⑦に対する傾きは、0.96 x 0.94 = 0.90 と推定した。）

その結果を表２．に示した。6 社 10 試薬の「C 社-⑦」試薬との傾きは 0.79～0.97 であった。

表２．各試薬の C 社-⑦試薬との傾き推定値

試薬名	C社-⑦との傾き
A社-①	0.81～0.87
A社-②	0.94
A社-③	0.90
B社-④	0.96～0.964
G社-⑥	0.79～0.92
D社-⑧	0.91
E社-⑨	0.95
F社-⑩	0.923
F社-⑪	0.97
E社-⑫	0.948

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

CA15-3 には公的標準品と呼べるべき標準物質は存在しない。各社が独自のトレーサビリティ体系により値付けを行っているのが実状である。

４－３　キット差の要因について

４－１に記載したように、乖離した測定値が内在していると思われる引用データを除くと、試薬間の相関性は傾き 0.9～1.1 の範囲内と良好であり、また特定の 1 試薬を基軸として間接的な換算を含む解析を実施しても、基軸試薬に対する傾きは 0.79～0.97 であった。

2005 年実施の「第 27 回イムノアッセイ検査　全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書」によると、13 試薬の試薬間 CV は、試料 1（基準範囲の濃度設定）で 18.6%、試料 2（軽度の高値）で 14.9%であり、最大最小差はそれぞれ約 3 倍、約 2 倍と、試薬間で開きが見られる内容であった（表３）。

表３．CA15-3 全国コントロールサーベイ測定値

（第 27 回イムノアッセイ検査全国コントロールサーベイ（2005 年）成績報告書を改変し作表）

	平均値 (U/mL)	
試薬	試料1	試料2
I	15.61	59.69
	15.40	
II	11.68	69.70
III	14.09	
	14.27	
IV	10.68	74.21
	11.13	75.07
V	14.61	72.79
VI	14.21	52.63
VII	15.95	68.70
VIII	16.52	67.65
IX	16.20	80.39
XI	5.91	44.82
XI	13.63	68.35
XII	15.05	40.77
XIII	10.45	69.20
最小値	5.91	40.77
最大値	16.52	80.39
最大値/最小値	2.80	1.97

今回の調査結果からは、測定値の収束化が期待できる結果であり、サーベイ成績との相違を確認したい。CA15-3 では血中での存在様式に多様性があるため、サーベイで使用されている人工的に調製された試料とは反応性が異なる可能性が高い。そのため、より正確な試薬間差を検証するためには、実検体を用いての測定値の比較を実施することが望ましい。

４－４　標準化に向けた実行計画

実検体を用いて、各社試薬で一斉に測定を行い、測定値を比較する。実検体は健常人血清、基準濃度範囲内血清、乳癌患者高値血清を用い、試薬の測定レンジを考慮して広範囲での検証を実施することが望ましい。また、各試薬の標準品の値付けによる試薬差を確認するという観点から、共通の抗原添加サンプルの測定も実施すべきである。この場合、標準物質の設定が必要なため、候補品となりうる抗原およびベースとすべきマトリックスの調査を行い、抗原添加試料を調製して測定する。

５．今後の課題

今年度の活動は文献調査にとどまったが、標準化が期待できる結果が得られたので、４－４．に述べた内容の実施が標準化に向けた第一歩となる。また、標準化に際しては共通の標準物質を設定する必要がある。CA15-3 には公的標準物質が存在しないため、その選定が必要となると同時に、然るべき手法で濃度設定を確立しなければならない。

６．結び

参加企業にアンケートを実施し、現状での試薬間差を調査したところ、試薬間での相関は 0.9～1.1（相関係数不良、切片不良のデータを除く）であり、1 試薬を対照とした傾きを解析したところ、推定値は 0.79～0.97 となり、収束性が期待できる結果となった。

標準化を実施するためには、標準物質やマトリックスの設定、各試薬でのトレーサビリティ体系の確認、等、課題はあるが、広範囲の実検体を用いて試薬間差を確認し、標準化に向けての可能性を追求したい。

２－４－２－２２　β2ーマイクログロブリン

要旨

１）　血清中及び尿中のβ２ーマイクログロブリン測定について、測定値の互換性の現状を文献および各社社内データに関するアンケートにより調査した。

２）　測定値の互換性の現状については、今回の調査のみでは全試薬間の関係は確認できなかったものの、相関データ間のつながりから追った集計により血清で 19 試薬中 7 試薬の相対的な位置関係を求めたところ、傾きで最大 24%の誤差が推測された。しかし、相関係数は各試薬とも対照品に対して 0.95 以上と良好であり、傾きの補正による標準化の可能性が窺えた。尿でも血清同様な状況であったが、血清に比べデータに乏しく評価が困難であった。

３）　標準物質の候補としては WHO 標準（NIBSC）が挙げられるが、使用濃度が 0.14 mg/L であることから、血清測定試薬用の標準物質としては濃度が低いため誤差を生じやすく、現在の試薬間差の一因とも考えられる。

４）　今回は公にされている文献を中心に調査を行ったためか、標準化が比較的容易な項目であるような調査結果となった。しかし、実際には測定原理による差および検体マトリクスによる反応性差の確認が必須であることから、実試料での一斉試験が必要である。加えて、現存する標品や精製品の測定により、現在の試薬間差の要因を特定することが標準化の重要なステップとなる。

１．目的

実試料系標準物質の調査研究項目のβ2ーマイクログロブリンでは、測定値の互換性およびトレーサビリティの現状について調査を行い、試薬間差の要因を推定したうえで標準化の実行計画を提案する。

２．委員会の構成

本 WG（β２ーマイクログロブリン）の構成メンバーを示す。但し、WG 発足以降に参加を辞退した企業や担当者の入れ替わり等が発生したため、18 年度報告書作成時のメンバーとした。

	氏　　名	所　　属
運営責任者	北嶋　幸子	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
運営管理者	今井　敏彦	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
柱１担当	本馬　康弘	富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
実行計画作成者	山﨑　忠	ﾃﾞﾝｶ生研株式会社
技術アドバイザー	桑　克彦	筑波大学大学院
技術アドバイザー	家入　蒼生夫	獨協医科大学
技術アドバイザー	森下　芳孝	三重大学医学部附属病院
技術アドバイザー	伊藤　喜久	旭川医科大学
技術担当者	飯田　邦晴	ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
技術担当者	藤本　栄樹	株式会社ｴｲｱﾝﾄﾞﾃｨｰ
技術担当者	阪崎　伸一郎	栄研化学株式会社
技術担当者	小林　隆	栄研化学株式会社
技術担当者	柏田　政義	極東製薬工業株式会社
技術担当者	大石　久泰	協和ﾒﾃﾞｯｸｽ株式会社
技術担当者	譽田　大仁	三洋化成工業株式会社
技術担当者	角田　浩一	ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
技術担当者	斉藤　憲祐	ﾃﾞｲﾄﾞﾍﾞｰﾘﾝｸﾞ株式会社
技術担当者	塚本　久雄	東ｿｰ株式会社
技術担当者	赤野　恭子	日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ株式会社
技術担当者	月本　あつ子	ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
技術担当者	島村　朗	株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ
技術担当者	菊池　孝志	ﾛｼｭ・ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
事務局	藤橋　和夫	日本臨床検査標準協議会

３．委員会の開催

第１回会合　2005 年 11 月 14 日（月）13:00～16:30　（日本臨床検査薬協会会議室）
第２回会合　2006 年 3 月 9 日（木）13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第３回会合　2006 年 6 月 12 日（月）13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第４回会合　2006 年 7 月 7 日（金）13:00～15:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第５回会合　2006 年 10 月 30 日（月）13:00～14:00　（日本臨床検査薬協会会議室）
第６回会合　2007 年 2 月 23 日（金）14:00～17:00　（日本臨床検査薬協会会議室）

４．調査研究の概要

４－１　測定値の互換性の現状

①　血清

参加各社に行った他社品との相関データに関するアンケートの集計結果は、対照品の名称が不明なものなどを除くと、12 社（A 社～L 社）、15 試薬（1～15、これ以外は対照品）となり、データのうち対照品が共通である試薬は、「A 社-１」試薬を対照としているものが 3 試薬あるのが最多で、特定の対照品を基軸として評価することは困難であった。

表１．相関データに関する調査結果（血清）

提供企業	試験品(Y)	対照品(X)	検体数	傾き	切片	相関係数
A 社	A 社-1	A 社-16	75	0.88	0.03	1.00
A 社	A 社-1	A 社-16	93	0.96	-0.04	0.99
A 社	A 社-2	A 社-1	200	1.00	0.22	0.99
B 社	B 社-3	L 社-17	69	1.01	-0.16	0.97
B 社	B 社-3	F 社-8	54	1.08	-0.12	1.00
C 社	C 社-4	A 社-1	50	1.07	-0.01	0.99
D 社	D 社-5	D 社-18	65	0.99	0.24	1.00
E 社	E 社-6	D 社-18	50	0.91	0.18	0.999
F 社	F 社-7	J 社-12	103	1.00	0.11	1.00
F 社	F 社-8	M 社-19	50	0.98	0.30	0.99
G 社	G 社-9	A 社-2	174	1.21	0.44	0.98
G 社	G 社-9	M 社-19	113	1.14	0.04	0.98
H 社	H 社-10	H 社-20	61	0.83	0.47	0.997
I 社	I 社-11	I 社-21	51	0.97	0.11	1.00
J 社	J 社-12	F 社-7	103	1.00	-0.11	1.00
K 社	K 社-13	A 社-1	100	0.97	0.13	0.97
L 社	L 社-14	N 社-22	504	0.91	-0.40	0.96
L 社	L 社-15	O 社-23	60	0.98	-0.10	1.00

基軸設定が困難なことから、間接的につながりをたどることのできる試薬に限り、相関性の傾きの関係について相対的な評価を試み、表２の結果を得た。表は相対的に測定値の高い試薬から順に並べ、それぞれの相関データの傾きから試薬間差を推定したものである。結果、繋がりのある 7 試薬間で、最大 24%の傾きの差が推測された。この 7 試薬で対照品との相関係数は 0.97～1.00、他の試薬でも相関係数 0.95 以上の結果であることから、共通の標準物質により傾きの補正を行うことで標準化の可能性は高いものと考えられる。

表２．試薬間の相対位置関係（血清）

回答企業	試験品(Y)	対照品(X)	傾き	累積差
G 社	G 社-9	A 社-2	*1.21	24%
B 社	B 社-3	F 社-8	*1.08	16%
G 社	M 社-19	G 社-9	*0.86	10%
F 社	F 社-8	M 社-19	*0.98	8%
C 社	C 社-4	A 社-1	*1.07	10%
A 社	A 社-2	A 社-1	*1.00	3%
A 社	A 社-1	A 社-2	*1.00	3%
K 社	K 社-13	A 社-1	*0.97	0%

② 尿

参加各社に行った他社品との相関データに関するアンケートの集計結果は表３の通りであった。血清同様、特定の対照品を基軸として全体を評価することは困難であった。

表３．相関データに関する調査結果（尿）

回答企業	試験品(Y)	対照品(X)	検体数	傾き	切片	相関係数
A 社	A 社-1	A 社-16	79	0.96	136.50	0.98
A 社	A 社-1	A 社-16	104	0.96	110.00	0.98
A 社	A 社-2	A 社-1	207	1.00	98.40	1.00
B 社	B 社-3	L 社-17	36	1.15	14.80	0.99
B 社	B 社-3	F 社-8	40	0.96	-7.87	1.00
C 社	C 社-4	P 社-24	72	0.88	1.94	0.97
C 社	C 社-4	Q 社-25	24	0.99	34.04	0.99
D 社	D 社-5	D 社-18	50	0.96	6.18	1.00
F 社	F 社-7	J 社-12	103	1.10	0.03	1.00
F 社	F 社-8	M 社-19	47	1.02	11.21	1.00
G 社	G 社-9	A 社-2	100	0.99	25.40	0.98
I 社	I 社-11	I 社-21	53	1.00	-0.01	1.00
J 社	J 社-12	F 社-7	43	0.91	-0.03	1.00
K 社	K 社-13	A 社-1	49	1.04	0.99	0.99
L 社	L 社-14	N 社-22	487	0.77	-40.00	0.98
L 社	L 社-15	O 社-23	83	0.98	-55.02	1.00

血清同様、基軸設定が困難なことから、間接的につながりをたどることのできる試薬に限り、相関性の傾きの関係について相対的な評価を試み、表４の結果を得た。対照品で繋がりのある４試薬間で、差は最大で 5%であった。試薬毎に見ると対照品との相関係数は良

好であるが切片の数値が大きいものもあり、血清に比べデータに乏しいことからも、再調査・検討の必要がある。

表４．試薬間の相対位置関係（尿）

回答企業	試験品(Y)	対照品(X)	傾き	累積差
K 社	K 社-13	A 社-1	1.04	5%
A 社	A 社-2	A 社-1	1.00	1%
A 社	A 社-1	A 社-2	1.00	1%
G 社	G 社-9	A 社-2	0.99	0%

４－２　市販キットのトレーサビリティの現状

各社、表５に示す一次標準物質から各社社内の標準測定法により値の伝達がなされている。トレーサビリティ体系は、主に図１の通りである。

表５．キャリブレーター値付けに関する調査結果

標準物質名	方法	回答数	回答社名
WHO 1st (NIBSC)	自社標準法	6 社	A 社, C 社, D 社, G 社, I 社, L 社
自社標準		1 社	F 社
その他(*)	記載なし	3 社	B 社, K 社, M 社

(*)現在試薬開発中のため回答なし。

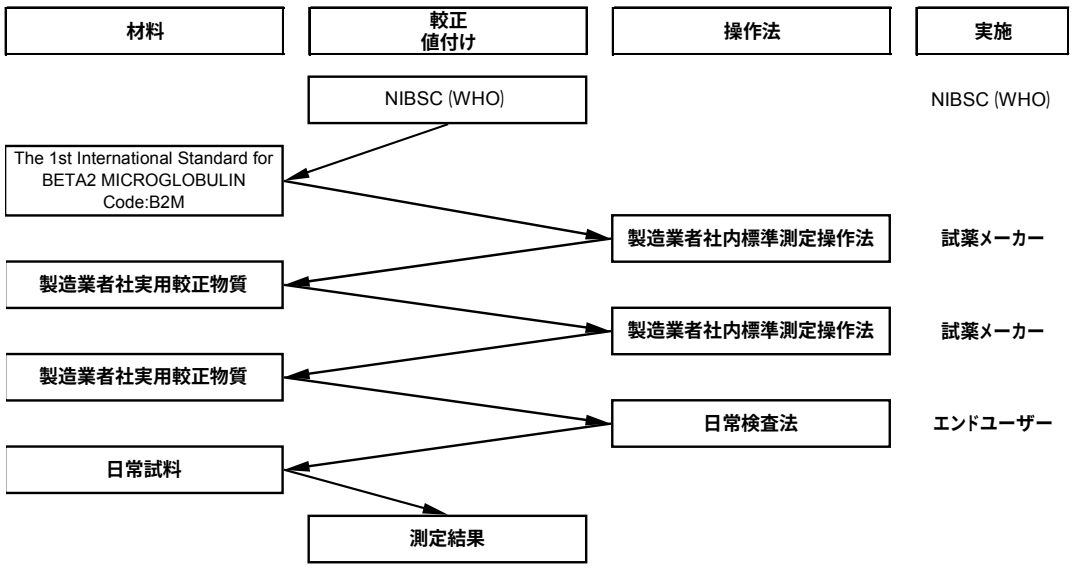


図１．トレーサビリティ体系図

４－３　キット差の要因について

キット差を生じる要因として、測定原理に起因するもの、トレーサビリティに起因するもの、試料に対する反応性およびマトリクスの影響に起因するものなどが想定されるが、本項目についてはトレーサビリティに起因するものが、大きな要因として挙げられる。本項目の上位標準物質にはＷＨＯ標準（The 1st International Standard for BETA2 MICROGLOBULIN Code: B2M, NIBSC）が存在するが、使用濃度が 0.14 ㎎/L と濃度が低く、血清中濃度の測定用試薬では適用し難く、誤差を生じやすいという現状にある。また、試料に対する反応性および検体マトリクスの影響についても、これまでに広く検討された報告はないため、実試料を用いた試験を行い、キット差を確認することが望ましい。

４－４　標準化に向けての実行計画

添付資料を参照。

５．今後の課題

平成 18 年度は、参加各社から収集した相関データの分析から、標準化の可能性について評価した。今後、実試料を用いた検討により、試薬間の反応性差の確認が必要である。

６．結び

今回は公にされている文献を中心に調査を行ったためか、標準化が比較的容易な項目であるような調査結果となった。しかし、実際には測定原理による差および検体マトリクスによる反応性差の確認が必須であることから、実試料での一斉試験が必要である。加えて、現存する標品や精

製品の測定により、現在の試薬間差の要因を特定することが標準化の重要なステップとなる。

10.【宿題事項】

要旨

1） 尿中 BMG の測定における酸性尿の影響について、測定値の互換性に与える影響が推測されるため、標準化に向けての注意事項として追加した。

2） 現存する WHO 標準について、正規の使用濃度では標準物質として適当でないが、現品の性状から考慮して、溶解量を変えるなどして利用できる可能性があることを追加した。

3） BMG の標準化に向けては、実試料での一斉試験が必要であるが、その際には血清を測定対象としたものだけでなく、尿を対象とした試験も必要となる。これらを同時に実施するか否かも議論の必要があるものと思われる。

1．目的

JCCLS 柱 1 項目群 WGC9（腫瘍マーカー群）の一項目である BMG について、本年度の調査活動として文献調査を行った。その結果は、2007 年 2 月末に最終報告書を提出しているが、第 6 回会合（2007 年 2 月 23 日実施）において、宿題事項として挙げられた内容について、本書にて追加報告する。

2．追加事項

2－1 測定値の互換性の現状（尿中 BMG に関する追加説明）

BMG は酸性尿中で不安定であることが広く知られている。尿中の酸性プロテアーゼによる作用によるものといわれており、採尿の時点ではすでに変性している可能性も否定できない。抗原抗体反応を基本原理とする測定系において、測定対象である抗原が変性している場合、正常な反応を得ることができず正確な測定値が得られなくなる可能性が考えられる。また、メーカー間で異なる抗体を使用している現状を考慮すると、BMG の変性が起こっている試料を測定した場合の反応性差は、変性がない場合の反応性差と異なることも考えられる。

先の調査報告書にて、表 3．相関データに関する調査結果（尿）として、各社試薬間の相関性を示した。基軸となる測定法がないため総合的な解釈はできないが、相関係数および傾きを見る限りは、概ね収束しているように思われた。しかし一方で、部分的に切片が大きい結果（最大で 136.5 μg/L）となっているものも見受けられ、測定値の互換性を評価するうえで、相関試験に使用する検体に注意する必要があることを示唆している。

2－2 今後の課題（WHO 標準の利用方法に関する追加説明）

本項目の上位標準物質として WHO 標準（The 1st International Standard for BETA2 MICROGLOBULIN Code: B2M, NIBSC）が存在するが、正規の使用法では BMG 濃度が 0.14 mg/L と低く、血清中 BMG 濃度の測定用試薬に対しては利用し難い。しかしながら、現品は 1 アンプルに 1.4 μg の BMG を含むものであり、溶解量によっては利用しやすい濃度にも調製できる。当然その場合は安定性の確認など事前検討が必要になるが、現存する市販の標準物質を活用するこ

とは、標準物質の選定において有効な手段のひとつであるため、選択肢として考慮するべきである。

３．結び

BMG の標準化に向けては、実試料での一斉試験が必要であるが、その際には血清を測定対象としたものだけでなく、尿を対象とした試験も必要となる。これらを同時に実施するか否かも議論の必要があるものと思われる（先の報告書では血清を対象にした実行計画案を添付した)。また、尿中 BMG の実試料による一斉試験を実施する場合は、酸性尿の取り扱いなど、試料の性状に関する確認方法についても議論のうえ、実施する必要がある。

【添付資料】

柱１ﾜｰｷﾝｸﾞｸﾞﾙｰﾌﾟ C9（腫瘍ﾏｰｶｰ）　BMG　実行計画書（案）

目　次

１．目的と計画概要
２．参加企業
３．各社試薬のトレーサビリティ体系に関する調査結果
４．検討用試薬及び材料等の購入について
５．検討用試料の準備について
６．各社試薬での測定値間差是正について
７．推奨できる標品の設定について
８．実行ｓｕｋｅｊｕ－ｒｕ

１．目的と計画概要

JCCLS 柱 1 項目群 WG により実行計画が示され、腫瘍ﾏｰｶｰ群は調査研究項目群として C9WG に分類される。β2 マイクログロブリン（BMG[又はβ2-MG]）は C9WG 調査研究対象項目（8 項目）中の一つであり、公的標品の存在有無等による JCCLS の分類においては「分類 2（基準①-B)」に属する。

本 WG（BMG）では「分類 2（基準①-B)」に基づいた実行計画を立案した。概要としては、基準となる標準品及びベースを共通化して推奨できる標準品の選定を行っていくと共に、実検体と各社測定試薬を用いて測定値間差の現状を把握し、是正の可能性を検証する。

尿検体に関しては、安定性の確保が困難なため今回の計画には入れていない。

２．参加企業

ｱﾎﾞｯﾄｼﾞｬﾊﾟﾝ株式会社
栄研化学株式会社
協和ﾒﾃﾞｯｸｽ株式会社
ｼｽﾒｯｸｽ株式会社
ﾃﾞﾝｶ生研株式会社
日本ﾋﾞｵﾒﾘｭｰ株式会社
ﾍﾞｯｸﾏﾝ・ｺｰﾙﾀｰ株式会社
ﾛｼｭ･ﾀﾞｲｱｸﾞﾉｽﾃｨｯｸｽ株式会社
株式会社ｴｲｱﾝﾄﾞﾃｨｰ
極東製薬
三洋化成工業株式会社
ﾃﾞｲﾄﾞﾍﾞｰﾘﾝｸﾞ株式会社
東ｿｰ株式会社
富士ﾚﾋﾞｵ株式会社
株式会社三菱化学ﾔﾄﾛﾝ

以上　１５社　20 試薬　（2007 年 2 月現在）

３．各社試薬のトレーサビリティ体系に関する調査結果

BMG には WHO 推奨国際標品が存在し、NIBSC より「The 1st International Standard for BETA2 MICROGLOBLIN Code B2M」として発売されている。この国際標品と各社試薬の「Std 値付け」との関係についてアンケート調査を行ったところ、次の通りの回答が得られた。

【2005/11 実施アンケート「Std 値付けについて」の結果（回答数 10 社)】

標準物質名	方法	回答数	回答社名
WHO 1st (NIBSC)	自社標準法	6 社	A 社, C 社, D 社, G 社, I 社, L 社
自社標準		1 社	F 社
その他(*)	?	3 社	B 社, K 社, M 社

参加企業１４社中 6 社の試薬において国際標品に基づいた値付けを行っている事が示された。

４．検討用試薬及び材料等の購入

一連の計画を実行するために必要な試薬等の概要は以下の通りである。

品　　名	使　用　目　的	購入金額
各社測定試薬等	検討試料を測定するために使用する。	（各社負担）
公的標準品	検討結果と公的標準品との関係を明確にするために使用する。	400.000　円
血清検体	測定値キット間差の検証に使用する。	?
抗　　原	「推奨できる国内標準品」の検討に使用する。	（調査中）
血　　清	血清系マトリックスの調製に使用する。	（調査中）
緩衝液成分	Buffer 系マトリックスの調製に使用する。	45.300　円
保存容器	検討試料の保管に使用する。	113.300　円

個々の詳細情報については次の通りである。

４－１各社測定試薬等

検討に必要な各社測定試薬を約 300 テストと見積もった。ただし、本ﾃｽﾄ数は検体や標品の入手状況や、得られた検討結果に応じて変動する可能性がある。具体的な製品一覧については（別項参照）のこと。

４－２公的標準品

公的標準品として WHO 推奨国際標品が存在するため、検討に以下の標品を選定した。

品名	The 1st International Standard for BETA2 MICROGLOBLIN Code B2M （WHO 推奨品）
ﾒｰｶｰ	NIBSC
Code	B2M
由来	Human serum
容量	100 IU/vial　（140ng/mL）
@	55 GBP
数量	4 本
購入金額	約 400.000 円

４－３血清検体

各社測定試薬の共通測定ﾚﾝｼﾞ（1～20 mg/L）を元に、検証が必要とされる濃度域を設定した。（一部キットは測定範囲を超えるが、必要に応じてキット指定希釈液で希釈測定）各社測定試薬で２重測定を行う際に必要な量を 600uL とした。

設定濃度域	検体数	検体量
0～1 mg/L	5	１検体 13.2mL（0.6mL x 22 本）
1～10 mg/L	10	
10～20 mg/L	10	
20～100 mg/L	5	
（合　計）	30	

＊検体収集の際の注意事項

①血清検体を使用する。

②検体の臨床データを入手する。

③プール検体の場合は、ﾌﾟｰﾙした履歴を把握する。

４－４抗原

参加企業に対するアンケート結果を基に、国内標準品候補の抗原として以下の抗原を選定した。

品名	BMG 精製抗原
ﾒｰｶｰ	日本バイオテスト研究所
由来	Human（尿）
容量	1mg, 10mg, 100mg （純度 99%以上）
@	（調査中）
数量	（調査中）
購入金額	（調査中）

４－５血清

血清系マトリックスの評価のためには BMG を含まない血清が必要だが、現時点で入手は困難なため、厳密にマトリックスの影響を評価するのは難しい。間接的には、血清検体と Buffer 希釈サンプルの反応性を比較することで影響程度を推定することができる。

４－６緩衝液成分

参加企業に対するアンケート結果を基に、Buffer 系マトリックスとして 1%BSA 含有 Tris-HCl 緩衝液（pH7.5）を選定した。作成に必要な成分は以下の通りとなる。但し、アンケートの中で、BSA による吸着が懸念されるとの意見がありましたので、BSA 含有のものと、BSA を含まないもの 2 種類を用意する。

品名	Tris（緩衝剤）	BSA
ﾒｰｶｰ	Sigma	Sigma
Code	T1503	A7030
容量	100g	10g
@	3,700	10,400
数量	1	4
購入金額	3,700 円	41,600 円

＊安定化剤・添加剤に関するの注意事項　：　作製した検討用試料は、比較検討に用いる前に凍結融解で影響を受けないこと/安定性等に問題がないことを確認する。

４－７保存容器

品名	(チューブ)	(キャップ)	(保管用セラムボックス)
ﾒｰｶｰ	QSP	アシスト	住友ベークライト
Code	514-Q	65.716	MS-99160
@	¥2,630/500 個	¥4,500/500 個	¥14000/20 箱
数量	5000	5000	100 本/箱で 60 箱
購入金額	¥26,300	¥45,000	¥42,000

５．検討用試料の準備

作製する検討用試料一覧

	抗原（標品）種	マトリックス	設定濃度（mg/L）
1	The 1st International Standard for BMG	血清系	設定せず
2	The 1st International Standard for BMG	Ｂｕｆｆｅｒ系	0.14
3	精製抗原	血清系	設定せず
4	精製抗原	Buffer 系(2 種)	１、５、10、20

５－１調製方法

検討用試料は重量希釈法で正確に作製し、原液濃度とのトレーサビリティがとれるようにする。公的標準品(WHO スタンダード)はもともとの濃度が低いため原液のものしか用意できず、キットによっては測定精度の維持が困難な可能性がある。

５－２保存・配布方法

検討用試料：１回に使用する分として、1mL ずつ小分けして凍結し、配布する。

検体：測定試薬１種類で測定する分として、0.6mL ずつ小分けして凍結し、配布する。

６．各社試薬での測定値間差是正

６－１検証方法

各社固有の測定試薬及びキャリブレーターを用い、血清検体（30 例）を各 2 重測定する。必要があれば、各社固有の検体希釈液を用いた測定を行っても良い。得られた測定結果は、WG 共通ﾌｫｰﾏｯﾄにてデータまとめ担当者へ送付する。

６－２結果の評価方法

暫定代表試薬を設定し、各社試薬との相関関係を確認する。指標には回帰式及び相関係数

を用いる。乖離値の有無についても確認し、各社試薬での測定値間差是正について考察する。

７．推奨できる標品の設

７－１検証方法

各社固有の測定試薬及びキャリブレーターを用い、５．検討用試料の準備で作製した試料（９例）を各２重測定する。得られた測定結果は、WG 共通ﾌｫｰﾏｯﾄにてデータまとめ担当者へ送付する。

７－２結果の評価方法

マトリックス種と抗原種の組合せ毎に各社試薬の測定値を集計し、６．各社試薬での測定値間差是正と同様の手法で評価する。更に、公的標準品の測定結果、患者検体と健常人検体測定結果とを併せて考慮し、妥当性のあるマトリックスと抗原の組合せを見いだす事ができれば本 WG（BMG）の「推奨できる標品」とする。但し、キットによりマトリックスの影響差が認められた場合は、感度が高くマトリックスの影響が小さいと考えられる EIA 系のキットを用い、公的標準品により値付けされた血清ベースの二次標準を設定する必要がある。

８．実行ｽｹｼﾞｭｰﾙ

ステップ-1　：　実行計画書完成・承認
ステップ-2　：　試薬及び検討用原材料収集
ステップ-3　：　検討用試料の作製
ステップ-4　：　検討実験
ステップ-5　：　結果の解析・評価
ステップ-6　：　最終報告

２－４－２－２３　フローサイトメトリー

要旨

１）本ワーキンググループは、フローサイトメトリー法を用いた末梢血リンパ球サブセット検査の標準化を目指し、末梢血リンパ球表面抗原検索に関するガイドライン（H1-A v1.0）を作成した。作成に先駆け、平成６年度にフローサイトメトリー法を用いた末梢血リンパ球サブセット検査を実施している全国の施設を対象としたサーベイ試験を実施した。本年度は、ガイドライン提唱後、本邦におけるフローサイトメトリー法によるリンパ球表面抗原の検査において標準化が進んでいるかを検証するため同様のサーベイ試験を実施した。

２）測定項目は、日常検査で汎用されている項目であるＴ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、ヘルパーＴ細胞、サプレッサー・細胞傷害性Ｔ細胞とした。また、その測定結果は、全リンパ球に対する陽性率（%）とした。

３）配布試料は、初回同様、ボランティアからの健常人末梢血検体 2 試料、市販の管理血球コントロール IMMUNO-TROL (ベックマン・コールター社)、Multi Check Control (ベクトン・ディッキンソン社)を使用した。また試料以外の試薬、サンプル調製方法、測定および解析方法については初回同様、サーベイ参加施設で通常行っている方法を採用するように依頼した。

４）各項目の陽性率の変動係数（CV%）を求め、結果の収束性を比較検討した。その結果、ガイドライン作成、配布、各種学会での発表等の活動はしたものの、その効果が得られておらず、初回と比較し若干改善みられた項目もあったがほぼ同程度の変動係数（CV%）であり、収束性を示すことができなかった。

５）今後の課題としては、市販の管理血球コントロールを標準物質として用いた日々の精度管理（内部精度管理）を積極的に実行する他、外部精度管理的方法を検査室が採用するよう委員会より提唱する活動が必要であると考えている。またデータが収束しなかった要因の一つとして、赤血球溶血剤の影響が考えられることから赤血球溶血剤とその使用方法を統一した系によるサーベイを今回の参加施設を対象に実施する予定としている。

１．はじめに

フローサイトメトリー法の測定は、その原理や解析方法などの性質により、手技や環境によって結果が異なる場合がある。免疫蛍光抗体法によるサンプル調製法においても、使用するモノクローナル抗体の種類や、赤血球溶血剤の種類や処理方法が異なることが多く、更に解析時、目的とする細胞集団へのゲートの設定がオペレータに依存するなど測定誤差を大きくする要因が多い検査である。

本ワーキンググループでは、このような現状を鑑み、リンパ球表面抗原の検索についてのガイドラインの作成に着手し、平成 12 年度に完成させ、その後パブリックコメントを収集し平成 17 年度に「末梢血リンパ球表面抗原検索に関するガイドライン（H1-A v1.0)」を作成した。ガイドライン作成に先駆け、本邦におけるフローサイトメトリー法によるリンパ球サブセット検査の現状を確認するために、検査センター数社を含め全国 68 施設によるサーベイ試験を実施した。平成 18 年度はガイドラインの提唱後、フローサイトメトリー法によるリ

ンパ球表面抗原の検査において標準化がなされているか確認するために同様のサーベイ試験を実施した。

２．目的

本サーベイ試験の目的は、本ワーキンググループが作成した『フローサイトメトリー法による末梢血リンパ球表面抗原検査におけるガイドライン（H1-A v1.0)』による標準化の普及を確認するため、末梢血リンパ球表面抗原検査結果が収束しているかどうかを調査することである。本サーベイ試験項目は、Ｔ細胞、Ｂ細胞、ＮＫ細胞、ヘルパーＴ細胞、サプレッサー・細胞傷害性Ｔ細胞とし、その測定結果は、全リンパ球に対する陽性率（%）とした。

３．委員会の構成

	氏名	所属
委員長	巽　典之	国際仏教大学
委員	中原一彦	大学評価・学位授与機構
委員柱 1／C1 担当	東　克巳	杏林大学保健学部
委員	池本敏行	大阪医科大学病院
委員	北村　聖	東京大学医学教育国際協力研究センター
委員	渡辺清明	東京臨床検査医学センター
メーカー担当者	小川恵津子	日本ベクトン・ディッキンソン株式会社
メーカー担当者	桜井公美	ベックマン・コールター株式会社

４．委員会の開催

平成 18 年　第 1 回会合：2006 年 6 月 23 日. 14 時～17 時（臨薬協会議室）

平成 18 年　第 2 回会合：2007/年 2 月 20 日. 14 時～17 時（臨薬協会議室）

５．調査研究の概要

(1)サーベイ参加施設

病院：52 施設, 検査センター：6 施設、合計：58 施設

（2）配布試料

１）ボランティア健常人末梢血検体　2 試料

２）市販血球コントロール検体　ImmunoTrol　1 試料、Multi Check　 1 試料

合計 2 試料

(3)サーベイ結果

各項目について、平均値、標準偏差、変動係数（CV 値）を算出した。

表に前回および今回の各項目における変動係数を示す。前回と比較して若干改善のみられた項目もあったが大幅な変動係数の改善は認められなかった。試料別による結果も同様であり、ま

た試料間による変動係数の差もないため、検体由来による誤差ではなく、サンプル調製や測定、解析方法に起因しているものと推測される。

表１

項目	健常人検体#1 平均値　<CV>	健常人検体#2 平均値 <CV>	ImmunoTROL 平均値　<CV>	Multi Check 平均値　<CV>
T 細胞	57.7 <9.7>	77.9 <5.6>	72.8 <4.1>	69.7 <3.3>
B 細胞	16.3 <19.0>	13.0 <17.7>	13.7 <9.5>	16.0 <10.0>
NK 細胞	22.1 <13.6>	8.0 <46.3>	10.0 <30.0>	6.5 <61.5>
ﾍﾙﾊﾟｰT	37.9 <12.4>	37.1 <9.7>	46.7 <4.5>	43.6 <3.9>
ｻﾌﾟﾚｯｻｰ・細胞傷害性 T	23.5 <21.3>	40.0 <8.5>	25.7 <11.7>	25.1 <11.2>

参考資料：初回サーベイ結果

項目	健常人検体#1 平均値　<CV>	健常人検体#2 平均値 <CV>	ImmunoTROL 平均値　<CV>	Multi Check 平均値　<CV>
T 細胞	59.4 <10.7>	69.7 <6.6>	75.3 <5.2>	75.3 <6.4>
B 細胞	6.4 <33.3>	8.5 <23.8>	17.2 <14.8>	13.9 <42.1>
NK 細胞	27.0 <26.3>	19.8 <27.0>	5.9 <45.6>	9.5 <66.5>
ﾍﾙﾊﾟｰT	29.4 <13.6>	28.5 <10.7>	50.7 <8.9>	45.9 <16.9>
ｻﾌﾟﾚｯｻｰ・細胞傷害性 T	38.9 <20.6>	40.6 <12.1>	26.2 <11.9>	26.6 <11.7>S

(4)考察

初回および今回共に、検査センターグループ内の施設間差は小さく、収束しているのが認められた。その理由として、外部精度管理プログラムに参加しているなど、日頃より精度管理を実行しているからではないかと推測できる。

一方、一般病院の中で平均値±2SD を超えた値を報告してきた施設に対して、サンプル調製や解析方法など、個別に調査した結果、赤血球の溶血不良によりリンパ球ゲートが適切に設定できていなかった施設が多いことが判明した。この調査結果からデータが収束していない理由としては、溶血不良が及ぼす影響、そして不適切なリンパ球ゲーティングが考えられた。また、外部精度管理などのサーベイが実施されていないため自施設での分析や解析結果の検証を他施設のデータと比較ができていないためと考えられた。

６．実試料標準物質の作製プロトコル

１）トレーサビリティ連鎖

フローサイトメトリー法においては、日常検体を正確に測定するために、測定操作法がきちんと精度管理されていなければならない。このためにプロセスコントロールとして市販の管理

血球を利用することができるが、製造者製品校正物質においては現在のところ、どのメーカーにも無い。

精度管理の目的の一つは、「安定して正確な測定結果を得る」ことにある。「安定して」とは、「再現性が良い」、あるいは「バラツキが小さい」という言葉に置き換えることもでき、従って、安定しているかどうかは、再現性やデータのバラツキ程度を評価するのと同じ方法により評価することが出来る。同一の検体を複数回測定したときに得られる測定値が、ほぼ同じであり安定した測定値が得られている状態を、精度管理では一般的に「精密性」が高いと言い、数値としては、通常 SD（標準偏差）や CV（変動係数）といった統計量が用いられている。これらの数値が小さいほど精密性が高いということができる。

一方、正確性は、実際の測定によって得られた測定値（観測値）が、どの程度「真値」に近接しているかを評価している。真値とは、検体中に含まれる測定対象物質の真実の値を示す概念であるが、一般的に真値を知ることは非常に困難であり、通常、様々な条件（試薬構成や使用する測定機器、施設など）で測定した場合の測定値を真値に替わる値としている。外部精度管理プログラムであるコントロールサーベイにおいて、全参加施設から報告された測定値の平均値を基準として正確性を評価しているのは、こうした理由に由る。測定値は真値に測定誤差が加算されたものと考えることができ、正確性は誤差の大きさを評価していると考えることができる。

フローサイトメトリー法においては、機器の感度設定や蛍光補正といった機器のコンディショニングに測定者の主観が入り込みやすいという点があり、また解析対象とする細胞集団を決めるゲーティングの部分でも主観が入り込みやすいという、他の測定方法とは異なる特殊性がある。これらの点は、「測定者に依存した誤差」という点で、系統誤差および偶然誤差の双方の要因になり得る。したがってフローサイトメトリーによる測定値には、他の機器分析よりも様々な誤差要因の入り込む余地が大きく、またその原因を特定し難い点があるといえる。

管理検体による内部精度管理ではおもに精密性の監視、向上を目的としており、このためには同一のサンプルを測定したときの測定値がいつも一定であるかどうかを評価する必要がある。最も広く行われているのが管理検体を用いた測定値のモニタリング（$\bar{X}$-R 管理図法）で、市販のコントロール試料やオリジンを一にする検体（管理検体）を一定の条件下に保存しておき、未知試料の測定時ごとにこの管理検体を同時に測定（二重測定）している。

2）試料の性状規格

IMMUNO-TROL (ベックマン・コールター社)、Multi Check Control (ベクトン・ディッキンソン社)は、フローサイトメトリー用の陽性プロセスコントロール（全血コントロール検体）で、リンパ球、顆粒球、単球に特異的な抗原の陽性率と絶対数が検定されている。全血検体に類似した散乱光と細胞集団の分布、蛍光強度及び抗原密度を示す。

3）値付けの方法

測定可能な抗原とその期待値の例は市販管理血球の添付書類を参照するのこと。値付けの方法はメーカーに依存している。

７．今後の課題

市販の管理血球がトレーサビリティを可能にするコントロールとして代用できるかどうか検討を進めるとともに、赤血球溶血剤とその使用方法を統一化した内容によるサーベイ試験を実施し、まずは溶血方法から標準化を推進するべきである。

８．結び

平成 18 年度のサーベイ試験において、残念ながらガイドライン作成による標準化の効果は認められてなかったが、外部精度管理的、精度管理の有用性を再認識することができた。

２－４－２－２４　FDP、D ダイマー

要旨

１）血清及び血漿 FDP, D ダイマーについて、「人工標準品候補品を調製・使用し、市販キットのデータ収束性について検証を行う」ことを目的とした調査研究を実施した。

２）測定項目は日常検査で汎用されている血清及び血漿 FDP, D ダイマーとした。

３）国内では日本検査血液学会の標準化小委員会が、また昨年度より日本血栓止血学会が FDP と D ダイマーを標準化すべく先行してきた。更に国際血栓止血学会も D ダイマーの標準化を進めている。しかし FDP、D ダイマーにおいては標準とされる物質がないことから標準化は困難とされ、人工物の調製も難しいとされてきた。前述の日本検査血液学会や日本血栓止血学会は Standardization ではなく、Harmonization の方向で標準化を推進してきた。日本検査血液学会では Harmonization のための試料を調製、各メーカーへ配布し、既に学会主導で集計がなされた。

４）　日本検査血液学会が調製した Harmonization 用の試料（8 階調のプール血清）を再度供与いただき、これを一次標準とした場合に Harmonization が可能か否か検証するとともに、これに準ずる二次標準品を設定すべく WG の活動を進めた。

５）FDP に関しては Harmonization　Sample は前回同様、良好な収束が得られたが、W.G が独自に調製した FD1 と FD2 の値は収束せず、Harmonization を行っても CV%が収束することはなかった。

しかし、FDP について DIC 診断基準設定の根拠となった FDP-L を対照に Harmonization を試みた結果、日本検査血液学会から供与いただいた試料（ヒト由来）では、血清 FDP と血漿 FDP の合算で Harmonization できる可能性を見出した。

D ダイマーについても試薬特性や単位の理解の前にカットオフ値が先行している現象も否めないが、今回の集計でヒト由来の試料では Harmonization が可能である見通しが立った。

６）WG が独自に調製した試料については、値の収束を見なかったことから、人工物質の調製方法については課題を残した。ヒト由来の試料が非常に有効でありながら、コンスタントな原料確保という難点があり、今後の検討は必要と考えた。Harmonization の可能性を見出した今回の活動は有意義であると考える。

１．目的

FDP と D ダイマーについて、Harmonization が可能か否かの検討を行い、同時にトレーサビリティがとれる二次標準品を WG にて独自に設定する。

２．委員会の構成

本委員会は調査研究項目群 C8・WG で、メンバーの構成は下記のとおりです。

アドバイザー	福武　勝幸	（東京医科大学）
	桑　克彦	（筑波大学大学院）
	森下　芳孝	（三重大学医学附属病院）

責任者	遠見　真理	（第一化学薬品）
柱１担当	嶋本　三利	（三菱化学ヤトロン）
運営管理者	飯塚　和之	（シノテスト）
委員	田邊　弘之	（あすか製薬）
	藤本　栄樹	（エイアンドティー）
	山岸　昇芳	（極東製薬工業）
	川住　勇	（シスメックス）
	秋葉　千佳子	（シノテスト）
	永山　尚	（デイドベーリング）
	田中　誠司	（日水製薬）
	赤野　恭子	（日本ビオメリュー）
	桜井　錠冶	（三菱化学ヤトロン）
	鈴木　浩一	（ロシュ・ダイアグノスティック）
	新井　次郎	（医学生物研究所）
	新谷　晃司	（東ソー）
	岩崎　満	（カイノス）
事務局	藤橋　和夫	（日本臨床検査標準協議会）

３．委員会の開催

第１回	2005 年 11 月 7 日	（臨床検査薬協会会議室）
第２回	2005 年 12 月 6 日	（臨床検査薬協会会議室）
第３回	2006 年 1 月 30 日	（臨床検査薬協会会議室）
第４回	2006 年 6 月 6 日	（臨床検査薬協会会議室）
第５回	2006 年 11 月 8 日	（臨床検査薬協会会議室）
第６回	2007 年 2 月 21 日	（臨床検査薬協会会議室）

４．WG　標準化事業推進の手順

１）日本検査血液学会が先行した Harmonization Project　1　の結果について、東京医科大学福武先生から説明いただいた。

２）　Harmonization Project　2　の結果について、山王病院　川合先生と協同で集計を行い、FDP と D ダイマーの Harmonization の可否を確認した。

３）　三菱化学ヤトロン社を中心に、WG 独自の人工標準品の作製を試みた。

４）２）の結果を踏まえ、Harmonization Project　1 の 8 階調の試料と、3）　WG が独自に調製した XDP 分画と同時測定し、その位置関係を明確にすることによって、独自に調製した人工標準品が、二次標準物質としての採用可能か否か検討した。

５．Harmonization 試料

Harmonization 試料 1（検査血液学会　Project　1）は　FDP-E 分画の測定値によって 8 階調の FDP レベルに分類されたプール血清で、それぞれの階調は 100 本の患者検体プールからなる。この試料は福武先生が保管されており、今回の WG の標準化事業推進にあたり供与いただいた。

Harmonization 試料 2（検査血液学会　Project　2）は血清と血漿のペア検体で、やはり 8 階調に調製された試料である。山王病院川合先生が管理された試料で、在庫はない。

測定データは 2006 年度の検査血液学会で報告された。

6．WG 独自の人工標準品

三菱化学ヤトロン社が中心に二次標準物質の候補品の調製を試み、実行計画書に従った。

1）検査血液学会　Harmonization　Project　1 の 8 階調の試料のうち 1 階調（No4）をゲルろ過にて分析し（図 1)、この結果を模倣した HMW-XDP と DD/E の配合した。

2）賦形剤、　1%BSA、　2%Lactose、　0.05%NaN3 を処方した。

3）Harmonization 試料と調製試料の反応性±25%を目標とした。

4）調製した 2 濃度の試料の最終含量比は 20.02 であった。

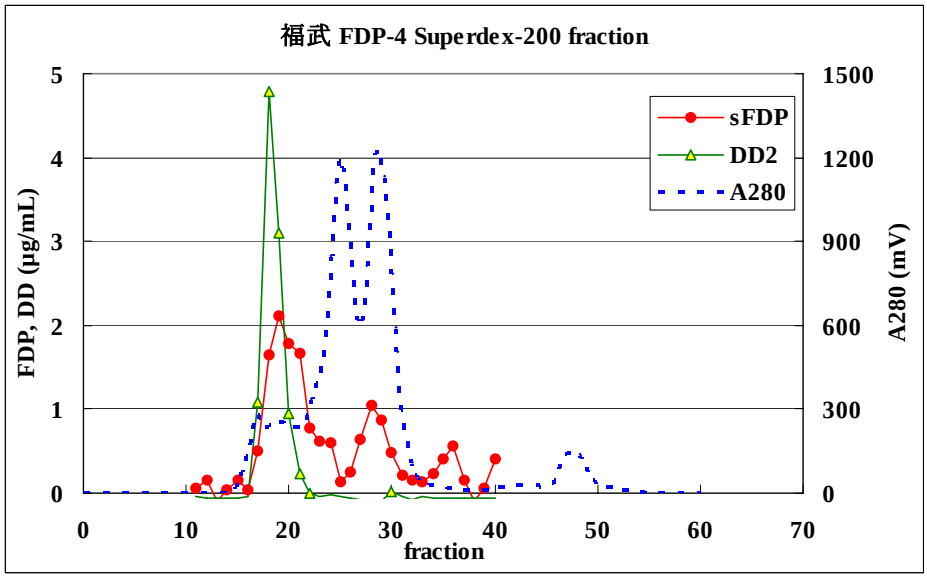


図 1．ゲルろ過チャート

7．FDP　Harmonization の可否の検討

既に学会が試料配布し測定値を回収している、8 階調の試料（検査血液学会 Project　2）データについて再集計し、Harmonization の可否を検討した。はじめに血清 FDP について、Harmonization を試み、次いで血漿 FDP、最後に合算した Harmonization を試みたので、その順番に記述する。

集計の手順とその結果は以下の通りである。

1) 測定された 8 階調のうち、各試薬の測定範囲や正確性を考慮し、最低値の試料と最高値の試料を除外し 6 階調（No.2～7）の試料を用いて集計した。

2) FDP については血清 FDP 半定量キット（DIC 診断基準の設定根拠となった試薬）である FDP-L テストでの測定値を基準とした。
FDP-L テストと参加した全血清 FDP 試薬測定値の整合性を確認し表 1 に示した。表中、赤の数値は FDP-L テストと整合性がとれないと判断し、次のステップに進んだ。

3) 6 階調の試料の測定値が半定量試薬の設定レンジ内の値をとった 3 種の血清 FDP 用試薬（No.4a、4b 及び 5c）の平均値を Target Value（TV）とした（表 2)。

4) 3)で算出された TV 値を X 軸とし、各試薬の実測値を Y 軸とした場合の一次回帰式を算出し、この一次回帰式の傾きと切片を用いて、各試薬測定値を補正した（表 3)。No.3～7 の試料で CV6.65%以下に収束した（表 3)。

5) 次に血漿 FDP 試薬についても血清 FDP 半定量試薬である FDP-L テストを基準とした TV 値を適用した。

表 4 は各試薬における実測データで、表 5 は、血清 FDP と同様の手順で導いた一次補正式と最終補正値である。一次式にて harmonize した結果 No3～7 の試料は CV 6.71%以下に収束した。

8) 最後に血清 FDP 試薬と血漿 FDP を合算した集計を試みた。
算出した補正式と最終補正値を表 6 に示した。No.4～7 の試料で CV8.55%以下に収束した。尚、No.3～7（TV 値 8.39～42.15μg/mL）の Harmonization 後の値は、血清 FDP 半定量試薬である FDP-L テストとほぼ整合性が取れていた。8 階調の試料について、Harmonization 前後の CV%を図 2 に示した。No1 を除き、CV%の収束が観察された。

学会が先行した Harmonization の試料について、FDP-L テストでの測定値をもとに、各定量試薬の Harmonization を試みた結果、測定値の CV%の収束が確認された。集計に用いる試料について No3～7、2～6 などを試み、また補正式についても一次式の切片の扱いなど、種々試みた結果、今回提示した切片を用いた一次式を採用した。

Harmonization の前後で CV%の収束が確認できたことから血清 FDP 試薬と血漿 FDP 試薬は同時に harmonize 可能であると考えられた。

表 1. FDP-L と各血清 FDP 試薬で定量値との整合性確認 （試料：血清）

		Harmonization Sample No							
試薬No		1	2	3	4	5	6	7	8
	FDPLテスト	0≦＜2.5	2.5≦＜5	5≦＜10	10≦＜20	10≦＜20	20≦＜40	40≦＜80	80≦＜160
1		6.00	8.42	12.52	16.76	19.74	24.38	42.82	106.58
3		5.60	8.73	13.54	18.01	21.18	25.74	42.51	102.96
4	a	2.84	4.52	9.12	15.64	20.22	24.64	46.02	113.20
4	b	2.44	4.62	8.78	14.82	19.24	24.08	38.72	57.56
5	c	2.05	3.92	7.26	11.68	15.14	20.10	41.71	85.90
6	a	2.14	3.74	6.68	10.74	13.80	16.92	32.18	79.14
8	a	2.34	4.61	8.22	12.64	15.38	18.95	32.79	85.36
12	a	1.50	3.36	6.88	12.10	15.68	19.54	31.68	50.68
13		2.50	4.42	8.18	12.50	15.94	19.22	29.10	53.86
	AV	3.05	5.15	9.02	13.88	17.37	21.51	37.50	81.69
	SD	1.52	1.88	2.29	2.37	2.55	3.00	5.78	22.16
	CV	49.8%	36.5%	25.4%	17.1%	14.7%	14.0%	15.4%	27.1%
	中央値	2.44	4.52	8.22	12.64	15.94	20.10	38.72	85.36
	MAX	6.00	8.73	13.54	18.01	21.18	25.74	46.02	113.20
	MIN	1.50	3.36	6.68	10.74	13.80	16.92	29.10	50.68

表 2. 8 階調の試料のうち No2～7 に設定した Target Value （試料：血清）

		Harmonization Sample No							
試薬No		1	2	3	4	5	6	7	8
	FDPLテス	0≦＜2.5	2.5≦＜5	5≦＜10	10≦＜20	10≦＜20	20≦＜40	40≦＜80	80≦＜160
4	a	2.84	4.52	9.12	15.64	20.22	24.64	46.02	113.20
4	b	2.44	4.62	8.78	14.82	19.24	24.08	38.72	57.56
5	c	2.05	3.92	7.26	11.68	15.14	20.10	41.71	85.90
	AV	2.44	4.35	8.39	14.05	18.20	22.94	42.15	85.55
	SD	0.40	0.38	0.99	2.09	2.70	2.47	3.67	27.82
	CV	16.2%	8.7%	11.8%	14.9%	14.8%	10.8%	8.7%	32.5%
	中央値	2.44	4.52	8.78	14.82	19.24	24.08	41.71	85.90
	MAX	2.84	4.62	9.12	15.64	20.22	24.64	46.02	113.20
	MIN	2.05	3.92	7.26	11.68	15.14	20.10	38.72	57.56

赤矢印を Target Value

表 3.（試料：血清）

各血清試薬に設定された補正一次式　　補正最終値

試薬No		a=	b=	r=	Harmonization Sample No 1	2	3	4	5	6	7	8
	FDPLテスト				0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	20≦<40	40≦<80	80≦<160
1		0.90	4.21	0.999	1.99	4.67	9.21	13.90	17.20	22.34	42.76	113.37
3		0.88	5.48	0.999	0.14	3.70	9.16	14.24	17.85	23.03	42.10	110.82
4	a	1.09	-0.01	1.000	2.61	4.15	8.36	14.33	18.52	22.57	42.14	103.65
4	b	0.90	1.81	0.996	0.70	3.11	7.72	14.41	19.30	24.66	40.88	61.75
5	c	1.00	-1.80	0.996	3.83	5.69	9.02	13.41	16.86	21.80	43.30	87.27
6	a	0.75	0.23	1.000	2.54	4.67	8.58	13.99	18.07	22.22	42.55	105.09
8	a	0.74	1.90	1.000	0.60	3.67	8.57	14.56	18.28	23.12	41.89	113.16
12	a	0.75	1.15	0.995	0.47	2.95	7.66	14.64	19.43	24.59	40.82	66.22
13		0.65	3.05	0.991	-0.86	2.12	7.94	14.64	19.97	25.05	40.36	78.73
				AV	1.33	3.86	8.47	14.24	18.39	23.26	41.87	93.34
				SD	1.40	1.01	0.56	0.38	0.98	1.13	0.93	19.23
				CV	104.99%	26.3%	6.7%	2.7%	5.3%	4.9%	2.2%	20.60%
				中央値	0.70	3.70	8.57	14.33	18.28	23.03	42.10	103.65
				MAX	3.83	5.69	9.21	14.64	19.97	25.05	43.30	113.37
				MIN	-0.86	2.12	7.66	13.41	16.86	21.80	40.36	61.75
				tv	2.44	4.35	8.39	14.05	18.2	22.94	42.15	85.55
				AV/tv(%)	-45.31	-11.30	0.95	1.32	1.02	1.41	-0.67	9.10

表 4. 各血漿試薬での試料測定値　（試料：血漿）

試薬No		Harmonization Sample No 1	2	3	4	5	6	7	8
	FDPLテス	0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	20≦<40	40≦<80	80≦<160
2		0.84	2.70	7.68	14.62	20.92	27.16	37.54	60.32
4	c	0.66	3.59	8.54	16.74	21.09	29.00	42.92	93.97
4	d	2.26	4.30	8.64	16.04	17.42	24.92	36.68	61.06
5	b	2.98	4.99	8.67	16.03	20.89	29.10	43.51	95.97
6	b	0.72	2.56	7.18	14.60	21.52	28.28	39.24	59.84
7		1.72	3.52	8.30	14.62	22.16	27.92	37.84	62.56
9		1.00	3.20	7.94	15.38	18.98	25.02	37.24	83.20
12		0.814	2.29	5.33	10.70	14.35	18.30	25.10	43.59
	AV	1.37	3.39	7.79	14.84	19.67	26.21	37.51	70.06
	SD	0.80	0.86	1.05	1.73	2.46	3.35	5.28	17.51
	CV	58%	25%	13%	12%	13%	13%	14%	25%
	中央値	0.92	3.36	8.12	15.00	20.91	27.54	37.69	61.81
	MAX	2.98	4.99	8.67	16.74	22.16	29.10	43.51	95.97
	MIN	0.66	2.29	5.33	10.70	14.35	18.30	25.10	43.59

表 5.　(試料：血漿)

各血漿試薬の補正一次式　　最終補正値

試薬No		a＝	b＝	r＝	Harmonization Sample No 1	2	3	4	5	6	7	8
	FDPLテスト				0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	20≦<40	40≦<80	80≦<160
2		0.930	1.373	0.972	-0.57	1.43	6.78	14.24	21.02	27.73	38.89	63.38
4	c	1.048	1.083	0.986	-0.40	2.39	7.11	14.94	19.09	26.63	39.92	88.62
4	d	0.854	2.327	0.986	-0.08	2.31	7.39	16.05	17.67	26.45	40.21	68.75
5	b	1.044	1.372	0.989	1.54	3.47	6.99	14.04	18.69	26.55	40.35	90.58
6	b	0.988	0.764	0.972	-0.04	1.82	6.49	14.00	21.00	27.84	38.93	59.77
7		0.922	2.143	0.968	-0.46	1.49	6.68	13.53	21.71	27.96	38.71	65.52
9		0.897	1.498	0.985	-0.55	1.90	7.18	15.47	19.48	26.21	39.83	91.06
12		0.608	1.520	0.970	-1.16	1.27	6.27	15.10	21.09	27.59	38.76	69.15
				AV	-0.22	2.01	6.86	14.67	19.97	27.12	39.45	74.60
				SD	0.74	0.67	0.35	0.80	1.34	0.67	0.65	12.32
				CV	-339.1%	33.20%	5.12%	5.46%	6.71%	2.49%	1.64%	16.52%
				中央値	-0.43	1.86	6.88	14.59	20.24	27.11	39.38	68.95
				MAX	1.54	3.47	7.39	16.05	21.71	27.96	40.35	91.06
				MIN	-1.16	1.27	6.27	13.53	17.67	26.21	38.71	59.77
				tv	2.44	4.35	8.39	14.05	18.2	22.94	42.15	85.9
				AV/tv(%)		-53.82	-18.22	4.42	9.71	18.22	-6.40	-13.15

表 6.　血清試薬と血漿試薬を合算した集計

	試薬No		ｻﾝﾌﾟﾙ	a＝	b＝	r＝	Hamonization Sample No 1	2	3	4	5	6	7	8
			FDPLテスト				0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	20≦<40	40≦<80	80≦<160
血清 FDP 試薬	1		血清	0.90	4.21	0.999	1.99	4.67	9.21	13.90	17.20	22.34	42.76	113.37
	3			0.88	5.48	0.999	0.14	3.70	9.16	14.24	17.85	23.03	42.10	110.82
	4	a		1.09	-0.01	1.000	2.61	4.15	8.36	14.33	18.52	22.57	42.14	103.65
	4	b		0.90	1.81	0.996	0.70	3.11	7.72	14.41	19.30	24.66	40.88	61.75
	5	c		1.00	-1.80	0.996	3.83	5.69	9.02	13.41	16.86	21.80	43.30	87.27
	6	a		0.75	0.23	1.000	2.54	4.67	8.58	13.99	18.07	22.22	42.55	105.09
	8	a		0.74	1.90	1.000	0.60	3.67	8.57	14.56	18.28	23.12	41.89	113.16
	12	a		0.75	1.15	0.995	0.47	2.95	7.66	14.64	19.43	24.59	40.82	66.22
	13			0.65	3.05	0.991	-0.86	2.12	7.94	14.64	19.97	25.05	40.36	78.73
血漿 FDP 試薬	2		血漿	0.93	1.37	0.972	-0.57	1.43	6.78	14.24	21.02	27.73	38.89	63.38
	4	c		1.05	1.08	0.986	-0.40	2.39	7.11	14.94	19.09	26.63	39.92	88.62
	4	d		0.85	2.33	0.986	-0.08	2.31	7.39	16.05	17.67	26.45	40.21	68.75
	5	b		1.04	1.37	0.989	1.54	3.47	6.99	14.04	18.69	26.55	40.35	90.58
	6	b		0.99	0.76	0.972	-0.04	1.82	6.49	14.00	21.00	27.84	38.93	59.77
	7			0.92	2.14	0.968	-0.46	1.49	6.68	13.53	21.71	27.96	38.71	65.52
	9			0.90	1.50	0.985	-0.55	1.90	7.18	15.47	19.48	26.21	39.83	91.06
	12			0.61	1.52	0.970	-1.16	1.27	6.27	15.10	21.09	27.59	38.76	69.15
						AV	0.60	2.99	7.71	14.44	19.13	25.08	40.73	84.52
						SD	1.38	1.27	0.93	0.65	1.41	2.14	1.45	18.83
						CV	227.8%	42.4%	12.1%	4.5%	7.3%	8.5%	3.6%	22.3%
						中央値	0.14	2.95	7.66	14.33	19.09	25.05	40.36	87.27
						MAX	3.83	5.69	9.21	16.05	21.71	27.96	43.30	113.37
						MIN	-1.16	1.27	6.27	13.41	16.86	21.80	38.71	59.77
						tv	2.44	4.35	8.39	14.05	18.2	22.94	42.15	85.55
						AV/tv(%)	-75.24	-31.31	-8.07	2.78	5.11	9.32	-3.37	-1.20

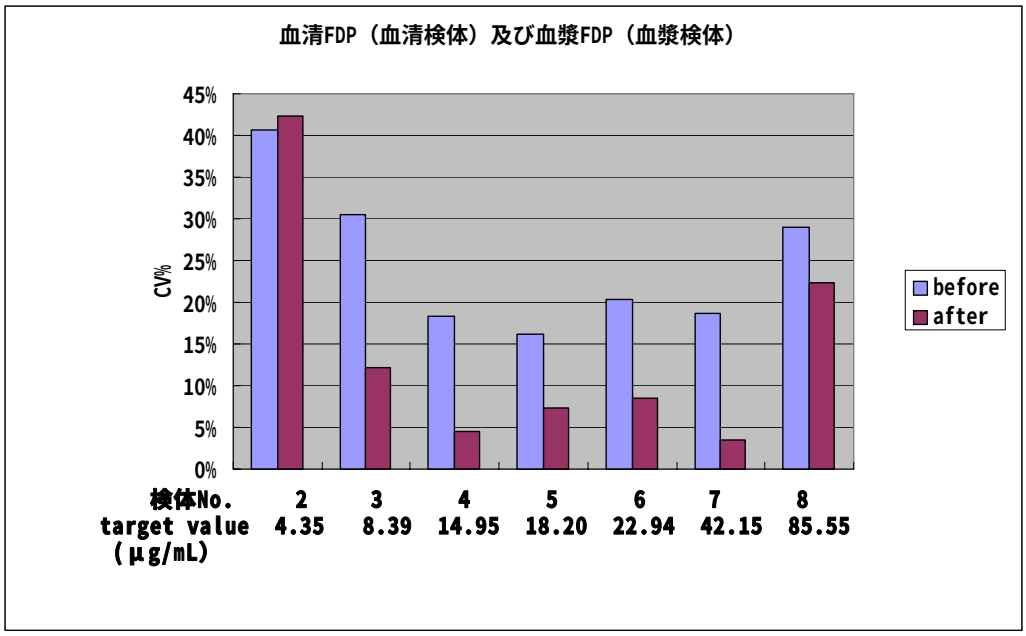


図 2. Harmonization の前後の CV%

８．D ダイマー　Harmonization 可否の検討

FDP と同様に 8 階調の試料の測定結果について再集計した。日本検査血液学会 Harmonization Project 1 で配布されたと同一の 8 階調の試料を、W.G で再度配布測定し、その結果を用いた。FDP と異なり D ダイマーには対照となる試薬や方法が存在しないことから、全集計値を用いて Harmonization の可能性を模索した。8 階調のうち最高濃度を除き、7 階調の試料測定値を用いて、参加キット測定値の中央値を求めることから始めた。最終的に測定値の傾向は 2 つのグループに分けられ、それぞれのグループ内において Harmonization の可能性を見出した。

以下に手順とデータを示す。

1) Harmonization Project 1 に参加した 15 のキットについて、8 階調の試料の測定値とその平均、中央値を表 7 に示した。

2) 試料 No1～7 について、①で求めた中央値を X 軸とした各キットの回帰式（y=ax）を算出し（表 8)、一次式の傾き a の分布を図 3 に示した。

3) a について図 3 に示したキット群を、1.06 を基準に 2 つのグループに分けた（表 9)。2 つのグループのうち a＞1.06 の 7 キットは全て DD 単位を用いたキットであり、a＜1.06 のグループ 8 キットは FEU 単位を用いたキットが全てと DD 単位キットが 2 キット、他で構成された。

4) これら 2 つのグループを別々の harmonize することを試みた。

表 10 は a＜1.06 のグループの測定値である。キット No. 10 が低値傾向であったことから 8 キット全てと、No.10 を除いた 7 キットについてそれぞれ中央値を求め、harmonize

の y=ax　の a を算出した。

表 12 は a＞1.06 のグループでキット No2 が低値傾向を示したことから全 7 キットと、No2 を除いた 6 キットで中央値を求めた。

表 13 はキット No2 も含めた harmonize の a である。

5) 2 つのグループで別々に Harmonization を行い、その関係（中央値）を検討した結果、表 14、図 6 に示したように、a＞1.06 のグループは a を用いた Harmonization を行う以前に値の収束が観察され、この 2 つグループ間にはほぼ 0.5 の傾きがあることが分かった。

以上より、D ダイマーについても日本検査血液学会　Harmonization　Project　1 試料を用いて Harmonization が可能であることを確認した。

表 7. D ダイマー　8 階調の試料測定結果

		Hamonaization サンプルNo							
キット	キット 単位	1	2	3	4	5	6	7	8
1	DD	0.52	1.11	2.70	4.40	6.62	9.88	14.24	51.20
2	DD	1.29	1.85	2.62	3.62	5.00	6.74	9.97	18.97
3	FEU	0.28	0.56	1.39	2.23	3.25	4.45	6.93	20.67
4	FEU	0.59	1.00	1.75	2.62	3.43	4.97	7.56	25.73
5	DD	0.71	1.34	3.09	4.87	7.37	10.15	15.73	51.14
6	DD	0.85	1.31	2.19	3.33	4.80	6.58	9.98	33.41
7	DD	1.05	1.71	3.15	4.88	6.70	9.12	13.58	59.70
8	DD	0.34	1.03	2.90	5.22	7.64	10.00	15.40	69.07
9	DD	0.38	1.12	2.82	5.14	7.36	9.84	14.66	89.60
10	FEU	0.31	0.61	1.19	1.70	2.26	2.75	4.46	8.71
11	FEU	0.17	0.36	1.10	1.92	2.92	4.11	6.48	29.01
12		0.24	0.61	1.74	2.97	4.70	6.77	12.17	51.73
13		0.97	1.41	2.18	3.13	4.19	5.86	9.57	31.87
14	DD	0.54	0.76	1.81	2.70	3.84	5.19	8.01	22.37
15	DD	0.95	1.61	3.16	5.25	7.31	9.89	15.84	44.19
	平均	0.61	1.09	2.25	3.60	5.16	7.09	10.97	40.49
	SD	0.34	0.45	0.73	1.26	1.85	2.53	3.80	21.77
	CV%	55.63	41.26	32.18	35.15	35.94	35.77	34.60	53.76
	中央値	0.54	1.11	2.19	3.33	4.80	6.74	9.98	33.41

表 8. 一次式の傾き a

キット	中央値をX軸とした各キットの傾き
1	1.38
2	1.08
3	0.67
4	0.76
5	1.51
6	1.01
7	1.40
8	1.48
9	1.53
10	0.46
11	0.59
12	1.02
13	0.95
14	0.80
15	1.53
平均	1.078
中央値	1.02

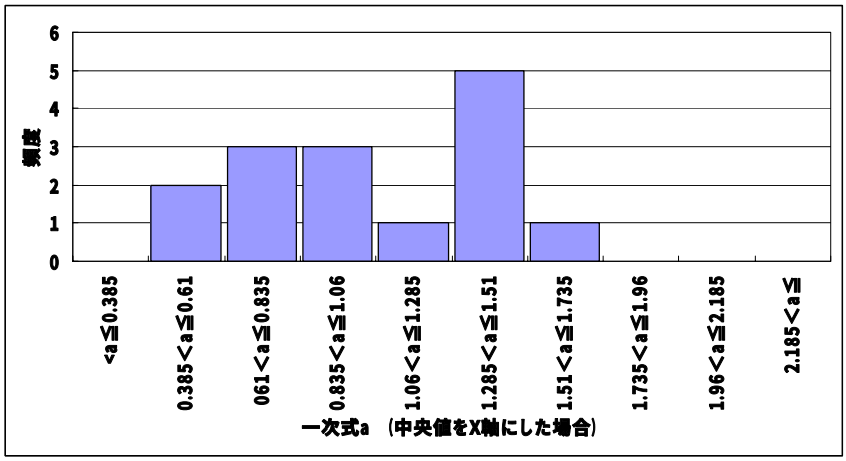


図. 3 a の分布

表 9. 2 つのグループの傾き a

a＜1.06のグループ　合計8キット

キット	中央値をX軸とした各キットの傾き	キット単位
3	0.67	FEU
4	0.76	FEU
6	1.01	DD
10	0.46	FEU
11	0.59	FEU
12	1.02	
13	0.95	
14	0.80	DD
平均	0.783	

a＞1.06のグループ　合計7キット

キット	中央値をX軸とした各キットの傾き	キット単位
1	1.38	DD
2	1.08	DD
5	1.51	DD
7	1.40	DD
8	1.48	DD
9	1.53	DD
15	1.53	DD
平均	1.416	

表 10. D ダイマー　Harmonization　(a＜1.06 のグループ)

a＜1.06のグループ		Hamonaization　サンプルNo							
キット	キット　単位	1	2	3	4	5	6	7	8
3	FEU	0.28	0.56	1.39	2.23	3.25	4.45	6.93	20.67
4	FEU	0.59	1.00	1.75	2.62	3.43	4.97	7.56	25.73
6	DD	0.85	1.31	2.19	3.33	4.80	6.58	9.98	33.41
10	FEU	0.31	0.61	1.19	1.70	2.26	2.75	4.46	8.71
11	FEU	0.17	0.36	1.10	1.92	2.92	4.11	6.48	29.01
12		0.24	0.61	1.74	2.97	4.70	6.77	12.17	51.73
13		0.97	1.41	2.18	3.13	4.19	5.86	9.57	31.87
14	DD	0.54	0.76	1.81	2.70	3.84	5.19	8.01	22.37
	平均	0.49	0.83	1.67	2.57	3.67	5.08	8.15	27.94
	SD	0.29	0.38	0.41	0.58	0.88	1.34	2.38	12.37
	CV%	59.48	45.42	24.81	22.63	23.97	26.30	29.27	44.27
	中央値	0.43	0.68	1.75	2.66	3.64	5.08	7.79	27.37

直線性が保てないキット10を除いた場合

平均	0.52	0.86	1.74	2.70	3.88	5.42	8.67	30.68
SD	0.31	0.39	0.40	0.50	0.72	1.02	2.01	10.40
CV%	59.17	45.96	22.76	18.49	18.68	18.87	23.18	33.88
中央値	0.54	0.76	1.75	2.70	3.84	5.19	8.01	29.01

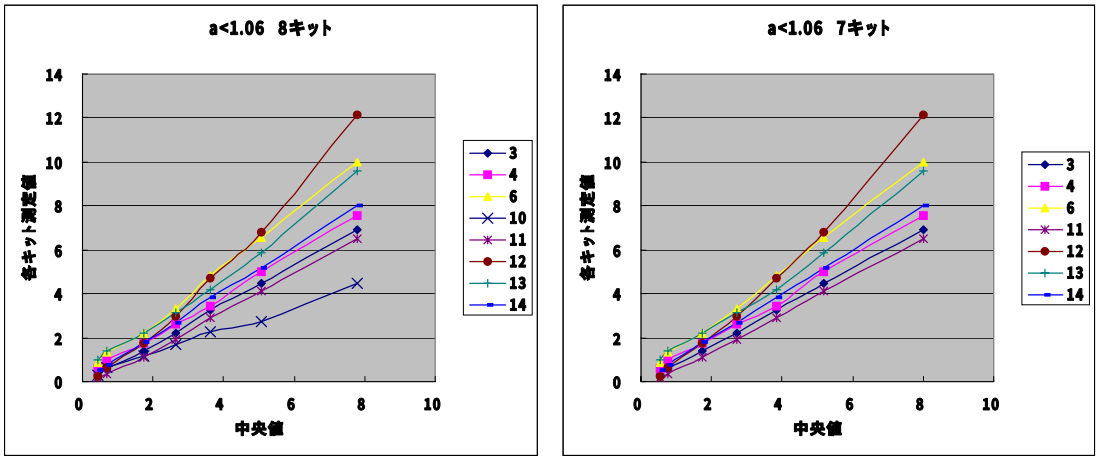


図 4.

表 11.

a＜1.06のグループ

8キットあるいは7キットでHarmonizationを試みた場合のy=axのa

キット N0	8キット	7キット
3	0.904	0.886
4	0.938	0.919
6	1.243	1.218
10	0.541	
11	0.866	0.849
12	1.600	1.569
13	1.145	1.122
14	1.018	0.998
平均	1.032	1.080

表 12. D ダイマーHarmonization　(a＞1.06 のグループ)

a＞1.06のグループ		Hamonaization サンプルNo							
キット	キット 単位	1	2	3	4	5	6	7	8
1	DD	0.52	1.11	2.70	4.40	6.62	9.88	14.24	51.20
2	DD	1.29	1.85	2.62	3.62	5.00	6.74	9.97	18.97
5	DD	0.71	1.34	3.09	4.87	7.37	10.15	15.73	51.14
7	DD	1.05	1.71	3.15	4.88	6.70	9.12	13.58	59.70
8	DD	0.34	1.03	2.90	5.22	7.64	10.00	15.40	69.07
9	DD	0.38	1.12	2.82	5.14	7.36	9.84	14.66	89.60
15	DD	0.95	1.61	3.16	5.25	7.31	9.89	15.84	44.19
	平均	0.75	1.40	2.92	4.77	6.86	9.37	14.20	54.84
	SD	0.36	0.33	0.22	0.59	0.90	1.21	2.04	21.84
	CV%	48.25	23.48	7.52	12.30	13.14	12.86	14.36	39.82
	中央値	0.71	1.34	2.90	4.88	7.31	9.88	14.66	51.20

直線性が保てないキット2を除いた場合

平均	0.66	1.32	2.97	4.96	7.17	9.81	14.91	60.82
SD	0.30	0.28	0.19	0.32	0.41	0.36	0.90	16.49
CV%	45.04	21.53	6.47	6.47	5.72	3.63	6.03	27.12
中央値	0.61	1.23	3.00	5.01	7.34	9.88	15.03	55.45

表 13.

a＞1.06のグループ

1	0.99
2	0.61
5	1.06
7	0.89
8	1.07
9	1.02
15	1.04
平均	0.95

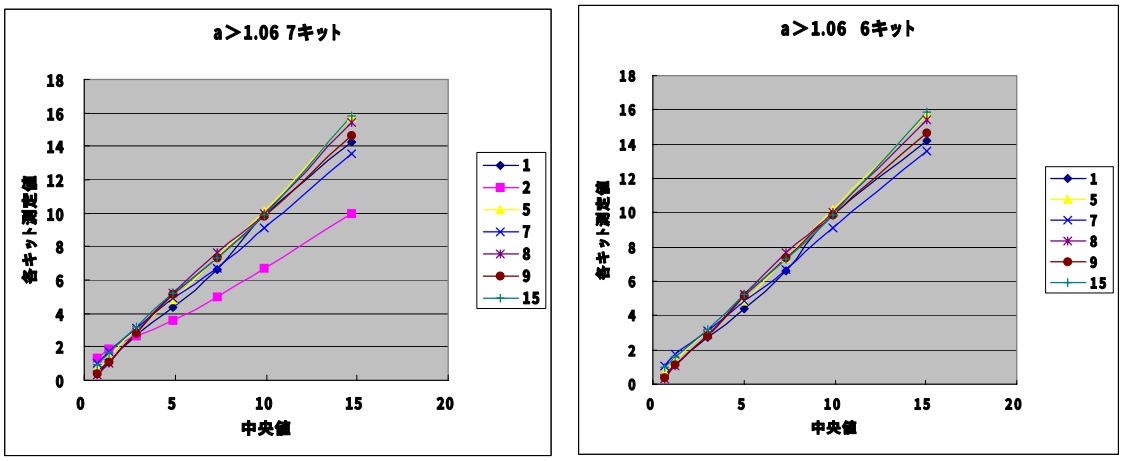


図 5.

表 14. 2 つのグループ間(中央値)の関係

2グループの関係　　(15キット)

	Hamonaization サンプルNo							
	1	2	3	4	5	6	7	8
a＞1.06	0.71	1.34	2.90	4.88	7.31	9.88	14.66	51.20
a＜1.06	0.43	0.68	1.75	2.66	3.64	5.08	7.79	27.37

2グループの関係　　(13キット)

	Hamonaization サンプルNo							
	1	2	3	4	5	6	7	8
a＞1.06	0.61	1.23	3.00	5.01	7.34	9.88	15.03	55.45
a＜1.06	0.54	0.76	1.75	2.70	3.84	5.19	8.01	29.01

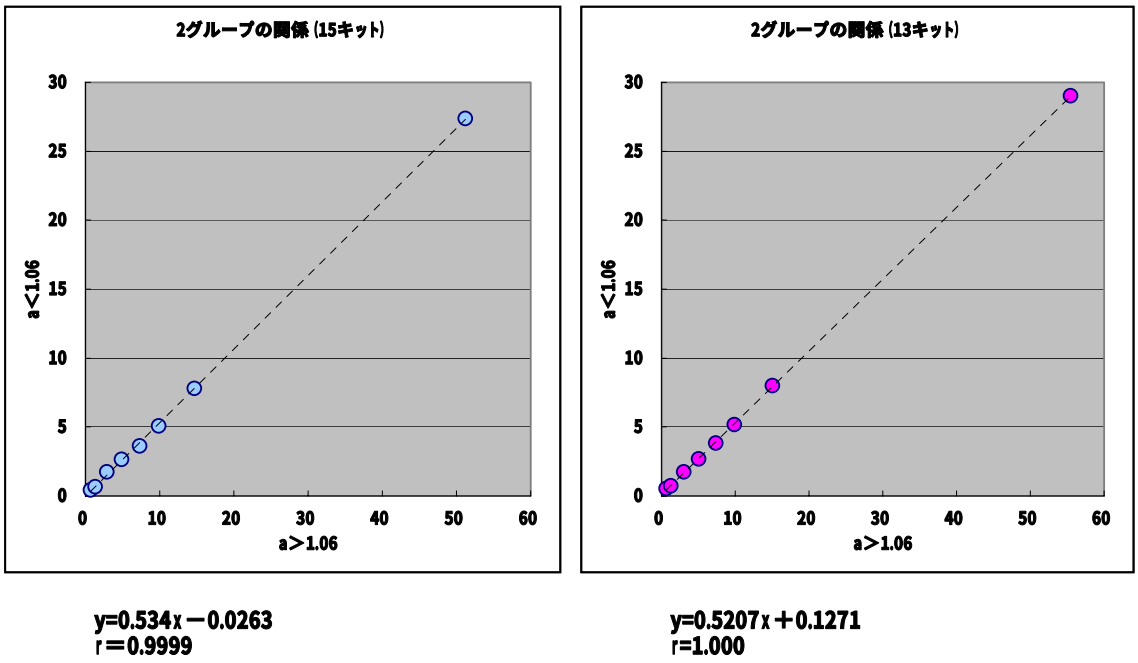


図６.

９. W.G が独自に調製した人工標準品での標準化の試み

＜FDP＞

日本検査血液学会が配布した Harmonization　Project　1 で配布した試料と同時に、W.G が独自に調製した試料を各メーカーに配布し、その測定値を回収した。

WG の試料（FD1 と FD２）は前述の通り、Project　1 の No. 4 を模倣したもので、No. 4 と同等の反応性を期待したものである。

Harmonization　Sample と一緒に表 15 に、測定値を示した。

FDP についてはⅧの手順に従い、一次式を導いた（表 16)。

Harmonization　Sample は前回同様、良好な収束が得られたが、W.G が独自に調製した FD1 と FD2 の値は収束せず、表 16 によって Harmonization を行っても、表 17 の通り CV%が収束することはなかった。

表 15. 測定値

	Harmonization Sample No								C8 独自調製試料	
試薬No	S-1	S-2	S-5	S-7	S-3	S-8	S-4	S-6	FD1	FD2
	0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	10≦<20	20≦<40	80≦<160		
	1.85	3.20	5.00	7.68	10.20	12.14	18.92	61.25		
1c	5.50	7.50	10.84	14.08	17.16	20.22	26.88	158.08	6.67	142.67
2b	1.38	2.18	4.30	6.52	9.28	12.92	20.00	53.02	1.38	18.46
3b	1.84	2.60	4.24	6.28	8.78	12.12	19.60	62.76	0.62	15.30
5b	3.48	4.62	6.80	9.94	12.94	15.86	22.78	62.82	3.86	70.48
5c	1.70	2.62	4.50	6.92	9.80	13.84	24.30	106.44	2.86	93.74
6b	1.92	3.10	5.20	7.77	10.31	13.05	21.08	84.74	2.62	61.29
7b	1.70	3.07	5.07	7.90	11.17	14.83	22.00	65.47	3.17	73.70
8	1.80	3.10	5.84	9.08	12.38	16.34	26.80	99.76	3.00	89.17
9b	0.96	1.57	3.32	5.86	8.97	12.35	19.12	58.41	0.81	16.00
1a	5.72	6.54	6.68	12.10	15.40	19.60	29.10	95.04	4.40	86.93
1b	0.00	1.94	4.28	8.04	9.70	13.56	20.62	44.80	1.53	
2a	1.68	2.82	4.58	6.94	9.30	11.36	18.62	59.98	1.28	24.18
3a	1.32	2.42	3.78	6.02	8.20	10.30	17.14	72.48	0.84	21.42
4	1.88	3.38	5.50	7.86	9.82	11.34	15.74	47.96	1.50	18.32
5a	1.86	3.50	5.36	8.56	12.06	14.56	24.14	65.48	1.42	32.66
6a	4.56	7.49	10.87	17.16	21.17	23.57	33.10	84.89	1.19	26.08
7a	4.50	5.43	6.80	8.73	10.33	11.53	15.37	38.60		
9a	2.00	3.10	4.54	7.37	9.60	11.30	17.17	71.58	1.00	20.62
AV	2.43	3.72	5.69	8.73	11.47	14.37	21.86	74.02	2.24	50.69
SD	1.61	1.83	2.13	2.97	3.38	3.59	4.81	28.21	1.61	38.36
CV	66.14	49.25	37.33	34.06	29.45	24.97	21.99	38.12	71.77	75.69

表 16. FDP Harmonization に用いた各試の一次式

試薬No	a	b	r
1c	1.22	4.49	0.995
2b	1.15	-1.71	0.997
3b	1.10	-1.49	0.995
5b	1.17	1.05	0.999
5c	1.39	-2.90	0.992
6b	1.14	-0.77	0.999
7b	1.23	-1.05	0.997
8	1.51	-2.09	0.998
9b	1.14	-2.36	0.997
1a	1.51	0.49	0.994
1b	1.19	-1.62	0.996
2a	1.00	-0.60	0.999
3a	0.94	-0.99	0.998
4	0.77	1.57	0.995
5a	1.32	-1.23	0.999
6a	1.62	3.43	0.993
7a	0.63	3.71	0.998
9a	0.90	0.27	0.999

表 17. Harmonization 後の値一覧

	Harmonization Sample No								C8 独自調製試料	
	S-1	S-2	S-5	S-7	S-3	S-8	S-4	S-6	FD1(溶)	FD2(溶)
試薬No	0≦<2.5	2.5≦<5	5≦<10	10≦<20	10≦<20	10≦<20	20≦<40	80≦<160		
TV	1.85	3.20	5.00	7.68	10.20	12.14	18.92	61.25		
1c	0.83	2.47	5.20	7.86	10.38	12.88	18.34	125.78	1.79	113.16
2b	2.70	3.40	5.25	7.18	9.59	12.77	18.94	47.75	2.70	17.60
3b	3.04	3.74	5.23	7.10	9.38	12.43	19.26	58.66	1.93	15.33
5b	2.08	3.06	4.93	7.62	10.19	12.70	18.63	52.95	2.41	59.51
5c	3.31	3.97	5.33	7.07	9.14	12.05	19.58	78.70	4.14	69.56
6b	2.36	3.39	5.24	7.49	9.72	12.12	19.17	75.00	2.98	54.43
7b	2.23	3.34	4.97	7.27	9.92	12.90	18.73	54.04	3.42	60.73
8	2.58	3.44	5.26	7.41	9.60	12.23	19.17	67.60	3.38	60.57
9b	2.90	3.43	4.96	7.19	9.91	12.86	18.78	53.14	2.77	16.05
1a	3.45	4.00	4.09	7.67	9.85	12.63	18.90	62.47	2.58	57.12
1b	1.36	3.00	4.97	8.13	9.53	12.78	18.72	39.08	2.65	
2a	2.27	3.41	5.17	7.53	9.88	11.94	19.19	60.50	1.87	24.75
3a	2.45	3.62	5.06	7.44	9.76	11.99	19.26	78.05	1.94	23.80
4	0.40	2.34	5.08	8.13	10.66	12.62	18.30	59.90	-0.08	21.63
5a	2.34	3.58	4.98	7.40	10.05	11.94	19.18	50.43	2.01	25.62
6a	0.69	2.50	4.58	8.45	10.93	12.40	18.27	50.17	-1.38	13.95
7a	1.26	2.74	4.91	7.99	10.53	12.43	18.52	55.44		
9a	1.92	3.14	4.74	7.88	10.36	12.24	18.76	79.13	0.81	22.59
AV	2.12	3.25	5.00	7.60	9.97	12.44	18.87	63.82	2.11	41.02
SD	0.89	0.49	0.30	0.40	0.47	0.34	0.38	19.29	1.34	27.87
CV	41.93	15.04	5.99	5.24	4.69	2.75	1.99	30.22	63.19	67.93
AV/tv(%)	14.49	1.70	0.06	-1.07	-2.25	2.47	-0.24	4.20		

<D ダイマー>

WG が独自に調製した試料について、D ダイマーも前述IXの手順に従い、Harmonization を行った。表 18 と図 7 は a<1.06 のグループの測定結果で、FD2／FD1 は 20 前後で推移し、平均値は 20.7 であった。IXと同様の手順で求めた a を用いて Harmonization を行った結果、8 キット間の CV%は Harmonization 前より、後の方が大きい結果となった（表 19、図 8）。

A>1.06 のグループについても同様の処理を行った結果、Harmonization の前後で CV%は大きくなった（表 20、図 9、表 21、図 10）。

表 18.

a<1.06のグループ

キットNo	FD1	FD2	FD 2/1
3	0.44	8.72	19.8
4	0.59	12.32	20.9
6	0.62	12.16	19.6
10	0.43	7.72	18.0
11	0.95	19.79	20.8
12	0.54	10.11	18.7
13	0.47	11.77	25.0
14	0.78	17.78	22.8
平均	0.60	12.55	20.7
SD	0.18	4.22	
CV%	30.0	33.6	

図 7.

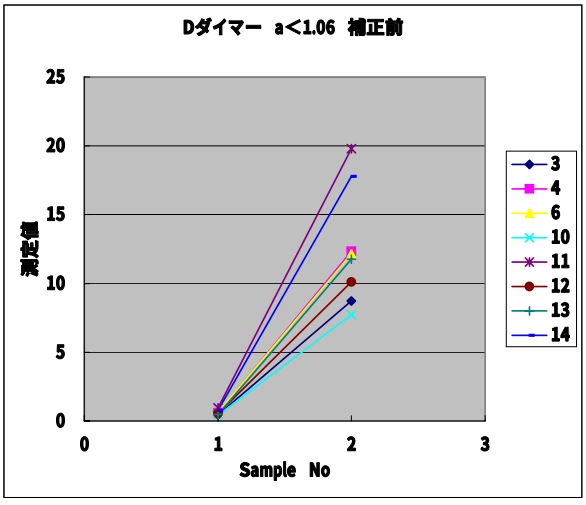


表 19.

Harmonization aを用いた再計算後の値

キットNo	FD1	FD2	用いたa
3	0.40	7.85	0.90
4	0.55	11.58	0.94
6	0.77	15.08	1.24
10	0.23	4.17	0.54
11	0.83	17.22	0.87
12	0.86	16.18	1.60
13	0.54	13.42	1.14
14	0.80	18.14	1.02
平均	0.62	12.96	
SD	0.23	4.86	
CV%	37.1	37.5	

図 8.

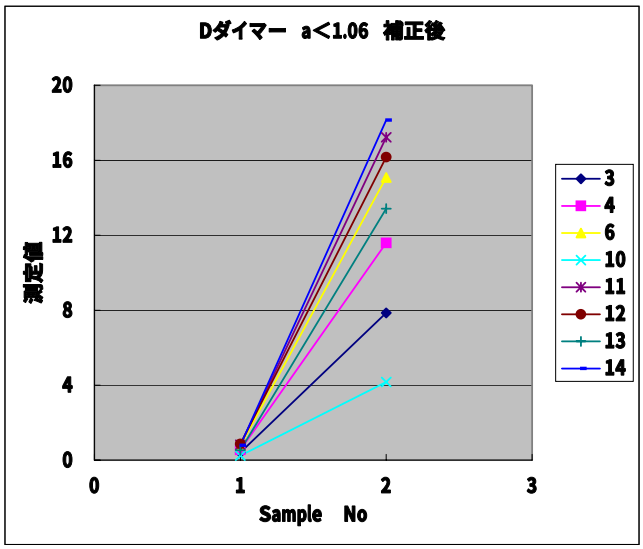


表 20.

a>1.06のグループ

キットNo	FD1	FD2	FD 2/1
1	0.84	15.79	18.8
2	0.49	11.90	24.3
5	0.93	19.71	21.2
7	1.08	18.05	16.7
8	1.40	49.07	35.1
9	0.47	38.93	82.8
15	2.14	52.54	24.6
平均	1.05	29.43	31.9
SD	0.58	16.97	
CV%	55.24	57.66	

図 9.

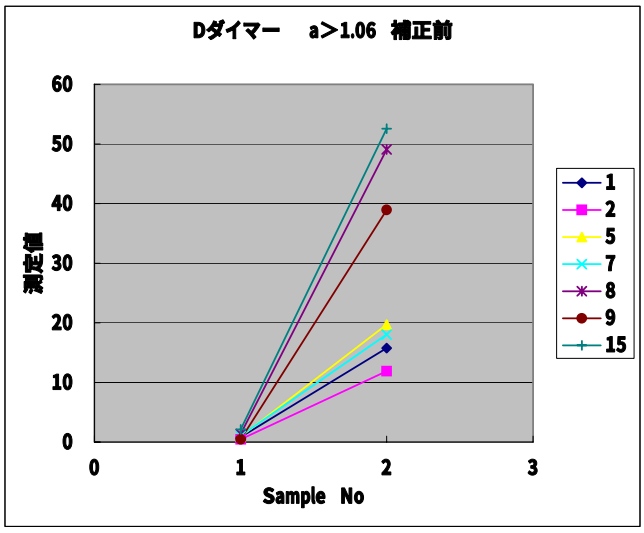
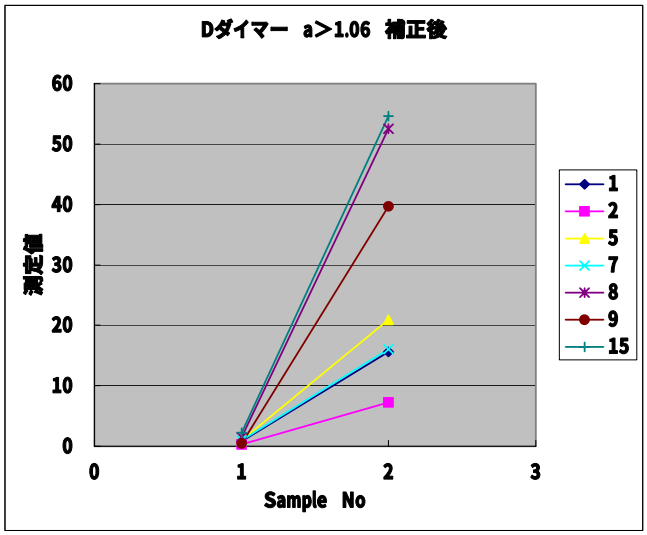


表 21.

Harmonization aを用いた再計算後の値

キットNo	FD1	FD2	用いたa
1	0.83	15.63	0.99
2	0.30	7.26	0.61
5	0.99	20.89	1.06
7	0.96	16.06	0.89
8	1.50	52.50	1.07
9	0.48	39.71	1.02
15	2.23	54.64	1.04
平均	1.04	29.53	
SD	0.65	19.18	
CV%	62.50	64.95	

図 10.



10. 考察

FDP や D ダイマーは、これまで標準品が作製できないことから標準化が困難とされてきた。実際国内外の学会が取り組んでいるが、未だ終着していない。

W.G では、日本検査血液学会と日本血栓止血学会が先行してきた標準化に協賛し、協同で標準化事業に取り組むべく活動を行ってきた。

FDP と D ダイマーには既に臨床的な見解が確立されており、診断基準やカットオフ値が存在し、これを容易に変えることは臨床サイドの混乱を生むことに繋がる。このことを考慮し、特に FDP について DIC 診断基準設定の根拠となった FDP-L を対照に Harmonization を試みた結果、日本検査血液学会から供与いただいた試料（ヒト由来）では、血清 FDP と血漿 FDP の合算で Harmonization できる可能性を見出した。

D ダイマーについても試薬特性や単位の理解の前にカットオフ値が先行している現象も否めないが、今回の集計でヒト由来の試料では Harmonization が可能である見通しが立った。

W.G が独自に調製した試料については、値の収束を見なかったことから、人工物質の調製方法については課題を残した。ヒト由来の試料が非常に有効でありながら、コンスタントな原料確保という難点があり、今後の検討は必要と考えた。Harmonization の可能性を見出した今回の活動は有意義であると考える。

この活動を中断することなく、更に先に進めたい意欲は、参加メーカーに共通する心情であることが確認されたので、来期も更に人工物質の検討を中心に進めて生きたいと考える。

３．研究発表、講演等の状況

・標準化セミナーでの講演

１．標準化 up-to-date （第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、2006 年 8 月、札幌）

標準化の戦略・・・・・・・濱崎直孝

国際標準化の現状・・・・・千葉光一

標準物質の研究開発（柱１）

１）実試料系１・・・・・桑 克彦

２）実試料系２・ ・・・・美崎英生

３）実試料系３・・・・・大和 隆

２． NEDO 基本検討委員会―平成 17 年度の成果および平成 18 年度の活動―

（2006 年度 特定非営利活動法人日本臨床検査標準協議会(JCCLS)学術集会、2006 年 8 月、東京）

司会：千葉　光一

純物質系標準物質の開発・・・高津　章子

実試料系標準物質Ⅰ・・・・・桑　克彦

実試料系標準物質Ⅱ・・・・・美崎　英生

調査研究・・・・・・・・・・大和　隆

３．標準化 up-to-date （第 53 回日本臨床検査医学会学術集会、2006 年 11 月、弘前）

司会：濱崎直孝

国際標準化の現状と国内態勢・・・・千葉　光一

実試料系標準物質の研究開発

①免疫成分系・・・・・・・・・・・大和　隆

②リパーゼ,p-Amy・・・・・・・・・美崎　英生

③HbA1c、グリコアルブミン・・・・桑　克彦

・その他講演等

１．桑　克彦： ISO, JCTLM,トレーサビリティと不確かさ．第 20 回北陸３県合同血液ガス分析コントロールサーベイ結果報告会、金沢、８月、2006. 資料集:1-10, 2006.

２．桑　克彦：HbA1c の JDS 値の現状と今後、SMBG の標準化．新潟県臨床衛生検査技師会、総合管理部門精度管理領域、生物化学分析部門臨床化学領域研修会、新潟、９月、2006. 資料集:1-10, 2006.

３．桑　克彦：ホルモン測定の標準化：トレーサビリティ連鎖と実試料標準物質． 第 45 回イムノアッセイ研究会、東京、11 月、2006. 抄録集：6-7, 2006.

４．桑　克彦：糖尿病検査における最近の話題―HbA1c 検査の動向． 第 3 回関東糖尿病療養指導研修会、東京、11 月、2006. 資料集：1-13, 2006.

５．桑　克彦：不確かさの基礎と推定法および不確かさ表示物質の利用法．兵庫県臨床衛生検査

技師会臨床化学検査研修会、三宮、11 月、2006. 資料集：1-19, 2006.

6．桑　克彦：臨床検査における不確かさ． 第 25 回岩手県医師会臨床検査精度管理セミナー、盛岡、12 月、2006. 資料集：1-13, 2006.

7．桑　克彦：2008 年新健診における検査のポイント：糖尿病関連・高脂血症関連. 平成 18 年度茨城県臨床衛生検査技師会臨床化学分野精度管理報告会、水戸、2 月 2007. 資料集 ：1-11, 2007.

8．桑　克彦：HbA1c 測定の精度管理と標準化の最新情報. 第 74 回新潟県臨床検査センター協議会総会・研修会、新潟、 3 月 2007. 資料集：1-10, 2007.

・研究発表

1．加藤　愛、加藤　尚志、恵山　栄、佐伯　美佳、高津　章子： アミノ酸組成分析法を用いたタンパク質標準物質の濃度決定 ． 第 67 回分析化学討論会 、秋田、5 月、2006.

2． Katsuhiko Kuwa：Global harmonization and standardization activity in Japan. Meeting of the National Center for Clinical Laboratories and the Chinese Committee on Clinical Laboratory Standards, Chengdu, Jun, 2006. Abstracts：1-32, 2006.

3．福永壽晴、桑　克彦、谷　渉、梅本雅夫：血液ガス測定の精確さのサーベイ結果. 第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、札幌、 8 月、2006. 臨床化学 35(Supp.1):41-42, 2006.

4．飯塚儀明、桑　克彦：血清マグネシウム濃度測定の標準化. 第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、札幌、 8 月、2006. 臨床化学 35(Supp.1):43, 2006.

5．桑　克彦:標準化と標準物質および国内外の進展状況. 第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、札幌、 8 月、2006. 臨床化学 35(Supp.1):87-88, 2006.

6．桑　克彦：トレーサビリティ確保の実際. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 教育実習セミナーテキスト:2-10, 2006.

7．宮下徹夫、山館周恒、関口光夫、熊坂一成、星野忠夫、桑　克彦：HbA1c 測定の正確さを確認するための精度管理試料の検討. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 臨床化学 35(Supp.2):42, 2006.

8．加藤隆則、井桁規矩二、桑　克彦：酵素法による血清 Ca の基準範囲の算出. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 臨床化学 35(Supp.2):43, 2006.

9．山崎慎介、飯塚儀明、桑　克彦：血清マグネシウム濃度測定のトレーサビリティと精確さの評価. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 臨床化学 35(Supp.2):44, 2006.

10. 飯塚儀明、桑　克彦： 24 時間クレアチニン・クリアランスの生理的変動幅の算出. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 臨床化学 35(Supp.2):65, 2006.

11. 斎藤友幸、白井秀明、山下計太、加藤隆則、飯塚儀明、吉海　毅、桑　克彦： Jaffe 法と酵素法のクレアチニン値を用いた推定 GFR とシスタチン C との関係. 第 46 回日本臨床化学会年会、東京、 9 月、2006. 臨床化学 35(Supp.2):65, 2006.

12. Katsuhiko Kuwa, Yoshiaki Iizuka, yukiko Ichige, Hiroshi Mitsumaki：Traceability chain for the POCT using the fully self-containing wet chemistry system. 21st International Symposium of POCT-Refining Point of Care Testing Strategies for Critical and

Emergency Care, Quebec, Sept., 2006. Abstarcts:87, 2006.

13. 飯塚儀明、澤畑辰男、市毛由希子、前川久美子、桑　克彦、川上　康：日立クリニカルアナラーザーS40 の性能確認試験―トレーサビリティと不確かさの大きさ．日本臨床検査自動化学会第 38 回大会、神戸、10 月、2006.　日本臨床検査自動化学会会誌 31(4):420, 2006.
14. 斉藤友幸、内山吉喜、白井秀明、加藤隆則、山下計太、飯塚儀明、吉海　毅、桑　克彦：クレアチニン測定用試薬キットの基礎的性能評価．日本臨床検査自動化学会第 38 回大会、神戸、10 月、2006.　日本臨床検査自動化学会会誌 31(4):671, 2006.
15. Katsuhiko Kuwa: Global harmonization and standardization activity in Japan 2006 Shanghai International Laboratory Medicine Conference, Shanghai, Oct, 2006. Abstracts:49-55,2006.
16. 白井秀明：膵型アミラーゼ活性測定の常用基準法の設定、第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、札幌、８月、2006.
17. 飯塚儀明：リパーゼ活性測定の常用基準法の設定（中間報告）、第 25 回日本臨床化学会夏期セミナー、札幌、８月、2006.

・論文投稿

１．桑　克彦：JCTLM における臨床検査の国際標準化と今後の我が国の動向．日本臨床検査自動化学会会誌 31(2)：137-152, 2006.
２．桑　克彦：コリンエステラーゼ酵素標準物質(ERM)Lot 001 の設定概要．日本臨床検査標準評議会会誌 21(1):61-69, 2006.
３．桑　克彦：常用標準物質の設定．臨床病理 54(9)：940-946, 2006.
４．Wataru Tani, Takuji Kouzuma, Toshimasa Nakayama, Katsuhiko Kuwa and MasaoUmemoto : Measurement of Glycosylated Albumin Based on Quantifying Glycosylated Lysine by Isotope Dilution Mass Spectrometry. 投稿中
５．飯塚　儀明、桑　克彦：自動分析装置を用いた日常検査法の不確かさの算出方法に関する研究．日本臨床検査自動化学会会誌 32:19-25, 2007.
６．富永真琴、桑　克彦、星野忠夫、中山年正、渥美義仁、雨宮　伸、高加国夫、須郷秋恵、永峰康孝： HbA1c 測定のためのレファレンスラボラトリー設定指針．臨床化学 36(1):67-73, 2007.

・解説等

１．千葉光一：臨床検査用標準物質の研究開発：概要．医学検査 55(11)：1211-1214, 2006.
２．高津章子：臨床検査用標準物質の研究開発：純物質系標準物質の開発．医学検査 55(11)：1215-1218, 2006.
３．桑　克彦:臨床検査用標準物質の研究開発:実試料系標準物質Ⅰ.医学検査 55(11):1219-1227, 2006.
４．美崎英生:臨床検査用標準物質の研究開発:実試料系標準物質Ⅱ.医学検査 55(11):1228-1241, 2006.

５．大和　隆：臨床検査用標準物質の研究開発：調査研究　医学検査 55(11)：1242-1245, 2006.

４．謝　辞

本研究は（独）新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）が支援する知的基盤創成・利用促進研究開発事業として行われたものである。NEDO 主催の本事業により、臨床検査の標準化に携わる多数の研究機関、臨床検査薬メーカー、臨床化学研究者、試薬メーカー技術者、計量標準研究者が集結して「臨床検査用標準物質の研究開発」の研究を推進できたことは非常に意義深い。さらに本研究が医療における安心・安全に大きく寄与することができ、もって今後の国民医療への多大な貢献が期待されるものである。

なお、本研究の実施に当たり、特に調査研究において健康人および患者様の試料のご提供にご協力いただきました機関に感謝の意を表します。また、（社）日本臨床検査薬協会および同協会加盟メーカーから貴重なる助言および多大なる協力を得たことに感謝いたします。

平成 18 年度成果報告

知的基盤創成・利用促進研究開発事業
臨床検査用標準物質の開発

平成 19 年 5 月

作　成　　独立行政法人　新エネルギー・産業技術総合開発機構
神奈川県川崎市幸区大宮町 1310
ミューザ川崎セントラルタワー20F
TEL 044-520-5175　　FAX 044-520-5177

委託先　　独立行政法人　産業技術総合研究所
茨城県つくば市梅園 1-1-1
TEL 029-861-4100　　FAX 044-861-4100